



Ingeniería en
Energías
Renovables

MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

- CONCEPTOS
- SILVICULTURA CLONAL
- VIVERIZACIÓN PARA
ENSAYOS DE EVALUACIÓN



CONCEPTOS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

AUTORES:

OLMAN MURILLO

M. ESPITIA

C. CASTILLO

DICIEMBRE 2017

CONTENIDO

UNIDAD 1

1.- RELACIÓN ENTRE EL MEJORAMIENTO GENÉTICO Y LOS RECURSOS GENÉTICOS FORESTALES.....	7
2.- ¿QUÉ ES EL MEJORAMIENTO GENÉTICO?.....	9
3.- ¿POR QUÉ DEBEMOS MEJORAR LAS PLANTACIONES FORESTALES?.....	11
4.- ¿CÓMO SE LOGRA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO?.....	15
5.- ¿CUÁNTO DURA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN GENERAR RESULTADOS?17	
6.- ¿CUÁL SERÍA LA GANANCIA O BENEFICIO QUE SE ESPERARÍA DE UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO?.....	19
7.- ¿CONTINÚA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN EL TIEMPO?.....	21
8.- ¿SERÁ EL MATERIAL GENÉTICO DE LA ORGANIZACIÓN O EMPRESA EL MEJOR?	25
9.- ¿QUÉ EFECTOS PUEDE TENER EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN LA SILVICULTURA TRADICIONAL?.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	29

CONTENIDO

UNIDAD 2

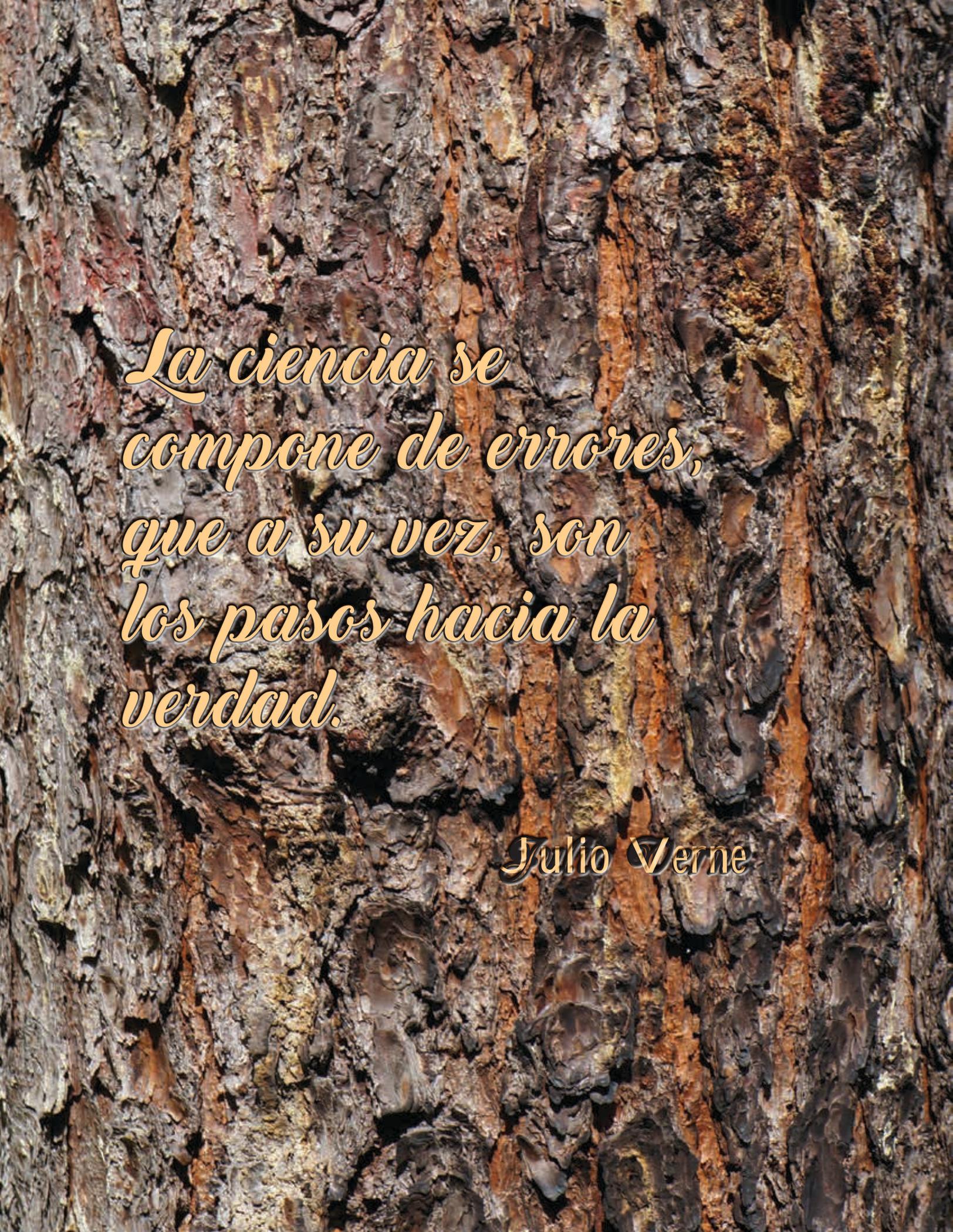
1.- DEFINICIONES Y CONCEPTOS GENERALES.....	33
2.- IMPORTANCIA DE LA MULTIPLICACIÓN VEGETATIVA DEL ÁRBOL PLUS.....	41
3.- PROCESO DE CAPTURA VEGETATIVA DEL ÁRBOL PLUS.....	45
4.- IMPORTANCIA Y EVOLUCIÓN DEL JARDÍN CLONAL.....	51
5.- ESTABLECIMIENTO Y MANEJO DEL JARDÍN CLONAL	55
PREPARACIÓN Y MANEJO DEL TERRENO PARA EL JARDÍN CLONAL AL AIRE LIBRE ..	55
TAMAÑO DEL JARDÍN CLONAL.....	56
TAMAÑO DEL INVERNADERO.....	57
MANEJO DEL JARDÍN CLONAL.....	58
SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CLONES EN POTES.....	59
SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CLONES EN SISTEMAS HIDROPÓNICOS	60
 BIBLIOGRAFÍA.....	 63



CONTENIDO

UNIDAD 3

1.- INVERNADEROS Y PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE MINIESTACAS.....	71
2.- SUSTRATO PARA EL ENRAIZAMIENTO.....	73
3.- EL RIEGO EN EL INVERNADERO.....	75
4.- PREPARACIÓN DE LAS ESTAQUILLAS.....	77
5.- USO DEL ENRAIZADOR Y SIEMBRA DE LAS ESTAQUILLAS.....	79
6.- PROGRAMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN.....	80
7.-EFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO.....	81
8.- PREVENCIÓN FITOSANITARIA.....	82
9.-CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL A PLANTAR.....	83
10.- ÁREA DE ACLIMATACIÓN DEL MATERIAL A PLANTAR.....	84
11.- IMPORTANCIA DE LA VALIDACIÓN DE LOS CLONES.....	85
12.- ESPACIAMIENTO INICIAL DE LA PLANTACIÓN CLONAL.....	87
BIBLIOGRAFÍA.....	89



*La ciencia se
compone de errores,
que a su vez, son
los pasos hacia la
verdad.*

Julio Verne

1.- RELACIÓN ENTRE EL MEJORAMIENTO GENÉTICO Y LOS RECURSOS GENÉTICOS FORESTALES

Los recursos fitogenéticos (RF) representan toda la diversidad genética vegetal, resultante del proceso evolutivo, desde que comenzó la vida en la tierra hace 3,000 millones de años. Desde el punto de vista de plantas útiles para el ser humano, comprende las plantas cultivadas, sus parientes silvestres, así como otras plantas no cultivadas, pero usadas para satisfacer sus necesidades. Los recursos fitogenéticos (RF) permiten desarrollar cultivos más productivos, resistentes y de mayor calidad. Ayudan a los países a incrementar la productividad y sostenibilidad de su agricultura e incluso desarrollarse a través de la transformación de materias primas. Sin embargo, a pesar de contribuir al sustento de la población y al alivio de la pobreza, son vulnerables; se pueden erodar y hasta desaparecer, poniendo en peligro la continuidad de las especies vegetales (*Araméndiz et al., 2010*).

Los recursos genéticos forestales (bosques naturales, plantaciones de especies nativas, bancos de germoplasmas *In Situ*, *Ex Situ*, *In Vitro*, Colecciones de campo, etc.) constituyen la materia prima para cualquier programa de mejoramiento genético forestal. Por ello todo programa de mejoramiento genético debe contar, aumentar, regenerar, caracterizar, evaluar y conservar su banco de germoplasma. La conservación y utilización racional de los recursos genéticos forestales constituye un importante desafío de carácter global, por cuanto conseguir un adecuado equilibrio entre la utilización y conservación de estos recursos representa un aspecto crucial para el desarrollo. La utilización del bosque y su conservación no son actividades mutuamente excluyentes, estos dos objetivos pueden compatibilizarse a través del mejoramiento genético forestal.

América Latina contiene el 22% del área boscosa del mundo, repartida en 90% en América del Sur, 9% en América Central y México, y 1% en el Caribe (FAO, 2007). Sin embargo, es una región que registra altos índices de deforestación. Por ejemplo, de 1990 a 2005 América Latina perdió casi 64 millones de hectáreas (7%) de superficie forestal. También en América Latina se registró más de un tercio de la deforestación ocurrida en el mundo entre el 2000 y 2005, y en este mismo período, todos los países de América del Sur perdieron superficie forestal, excepto Chile y Uruguay, que implementaron programas de plantación industrial en gran escala (FAO, 2009).

Las estrategias de mejoramiento genético no sólo deben velar por obtener ganancias genéticas en los caracteres de interés a corto plazo, igualmente deben asegurar y conservar una amplia variabilidad genética, con el objeto de disponer de una fuente permanente de genes deseables para satisfacer las necesidades futuras del programa de mejoramiento. En este sentido, el mejorador forestal es por esencia un conservador, pues sí bien reconoce que el mejoramiento genético es una actividad que permanentemente puede agregar valor a los recursos, ésta valoración progresiva sólo se verificará en la medida que disponga permanentemente de fuentes de variabilidad genética para incorporar al esquema de mejora y sólo de ésta forma obtener ganancias genéticas progresivas en el tiempo.

Se deben descartar los falsos argumentos que señalan enfoques opuestos entre conservación y mejoramiento, es fácil comprender el auge que ha mantenido el mejoramiento genético al aumentar el interés de la sociedad por conservar los recursos genéticos forestales.

2.-¿QUÉ ES EL MEJORAMIENTO GENÉTICO?

Es un proceso artificial que utiliza 1) *la variación natural* y 2) *los mecanismos de la herencia*, para lograr incrementar la producción en volumen y calidad de las plantaciones forestales. Por lo general implica también una mejoría en las propiedades físicas y mecánicas de la madera de los árboles (densidad, dirección de fibra, aparición temprana de duramen y de madera adulta), un incremento en el número de árboles de alto valor comercial/ha (calidad 1 ó 2), así como un aceleramiento en el crecimiento de las plantaciones, que posibilitan raleos rentables y cosechas tempranas. Como resultado general, se obtienen plantaciones forestales de mayor productividad y mejor relación económica-financiera para el productor. En la Figura 1, se presenta un esquema general para un programa de mejoramiento genético forestal.

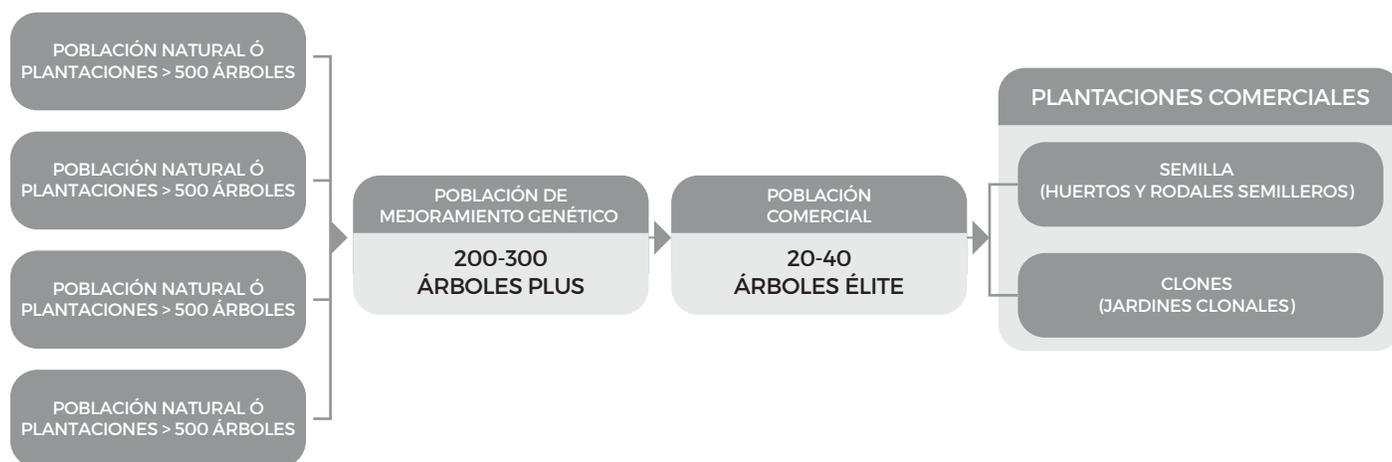


FIGURA 1. ESQUEMA POBLACIONAL DE UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

Existen varios autores que han propuesto otras definiciones de mejoramiento genético, entre ellas vale la pena mencionar algunas que se dieron a conocer al inicio, como:

- a) El mejoramiento genético, en un sentido amplio, es el arte y la ciencia de alterar o modificar la herencia de las plantas para obtener cultivares (individuos, variedades, híbridos, clones, etc.) mejorados genéticamente, adaptados a condiciones específicas, de mayor productividad y de mejor calidad que las poblaciones nativas. En otras palabras, el mejoramiento genético tiene como propósito crear plantas o árboles cuyo patrimonio hereditario esté de acuerdo con las condiciones, necesidades y recursos de los productores, transformadores, industria y consumidores (Vallejo y Estrada, 2002).
- b) Según la FAO y el PNUMA, citados por el MADR (2007), el mejoramiento genético forestal se define como “la aplicación de los principios de la genética a la producción de árboles de caracteres específicos. En el sentido más estricto, se aplica a la multiplicación por polinización artificial; en el sentido más amplio, se refiere a sistemas de mejoramiento muy variados: desde la recogida de semillas procedentes exclusivamente de los mejores árboles (llamados árboles plus y árboles élite) o de las mejores fuentes de semillas (selección masiva) hasta los programas muy refinados de polinización regulada de fases múltiples y en generaciones múltiples”
- c) A su vez, Zobel y Talbert (1988) definen que el mejoramiento forestal “es una herramienta adicional de la silvicultura, que estudia el tipo y constitución genética de los árboles utilizados en las operaciones forestales”. Sin embargo, los autores afirman que comúnmente los términos genética forestal y mejoramiento genético forestal se confunden en uno sólo. La genética forestal comprende “todos aquellos estudios que se limitan al estudio de la herencia y variación (naturaleza genética de los individuos), en cambio, el mejoramiento genético se refiere “al control genético del origen del material en aquellas actividades que tienen como finalidad aumentar la cantidad y calidad de los productos”.

3.-¿POR QUÉ DEBEMOS MEJORAR LAS PLANTACIONES FORESTALES?

El mejoramiento genético constituye la estrategia más eficiente, eficaz y sostenible para solucionar los limitantes bióticos y abióticos, incrementar los rendimientos, la calidad y productividad de los cultivos, incluido el cultivo de la madera.

La generación y liberación continua de nuevos genotipos mejorados de cultivos (alimenticios, industriales, etc.) ha posibilitado satisfacer las necesidades alimenticias de la humanidad, además de proveer materias primas para un sinnúmero de productos industriales, químicos y de alimentación animal. A través del mejoramiento genético convencional y la ayuda de herramientas biotecnológicas y biométricas, los mejoradores han logrado manipular gran parte del genoma de las especies cultivadas. Lo que ha posibilitado la liberación de cultivares con altos rendimientos y adaptados a diversos ambientes. A pesar de que este esquema ha sido exitoso, los nuevos desafíos impuestos por la políticas ambientales, industria alimentaria e industrial y los consumidores, han agregado una arista extra a la creación de nuevos cultivares. Ya no sólo es necesario asegurar rendimientos y estabilidad productiva para los diversos rubros de las cadenas alimentarias e industriales, sino también calidad nutricional, generación de compuestos nutricionales y propiedades específicas en el producto final.

El mejoramiento genético forestal constituye uno de los elementos esenciales y limitantes del paquete tecnológico actual, que debe ser considerado prioritario y fundamental para mejorar la productividad, competitividad y sostenibilidad de la cadena. En razón a que es una de las vías más seguras de garantizar a futuro una provisión de material vegetal en volumen y calidad, de acuerdo a las exigencias, requisitos, necesidades, condiciones y recursos de reforestadores, transformadores, distribuidores, mercado nacional e internacional y consumidores de la madera y sus productos en un mundo globalizado (MADR, 2007).

La empresa forestal líder del futuro será aquella con acceso a una base genética amplia que le permita propagar sus mejores individuos provenientes de poblaciones naturales o programas de mejoramiento genético (MADR y CONIF, 1998).

Existen diferentes factores que se mencionan comúnmente en favor de la inversión en programas de mejoramiento genético (MADR, 2007). Entre los más importantes está el alto nivel de consumo a futuro de productos de la madera; el cambio acelerado en las necesidades y hábitos de consumo hacia un material noble como la madera; una mayor exigencia de calidad del mercado nacional e internacional de la industria maderera;

una menor utilización de los bosques naturales como fuentes de madera, dadas las exigencias de sustentabilidad ambiental que comienzan a imponer los consumidores. Todo esto exige cada vez más a los programas de mejoramiento genético forestal la necesidad de apoyar las plantaciones, en incorporar y mejorar especies nativas de interés, incrementar el rendimiento y calidad de los árboles y su madera, desarrollar resistencia a plagas, enfermedades y factores abióticos como sequías e inundaciones, entre otros.

A nivel mundial, las extracciones de madera continúan en aumento. La explotación de madera notificada asciende a 3.4 mil millones de metros cúbicos anuales, un volumen semejante al registrado para 1990 y equivalente al 0.7% del total de las existencias en formación. Si se considera que la madera extraída informalmente o ilegalmente, especialmente la leña, no se suele registrar, la cantidad real de las extracciones de madera es indudablemente mayor. A escala mundial, aproximadamente la mitad de la madera extraída es leña para combustible (FAO, 2010).

La FAO (2009), señala que los cambios demográficos, el crecimiento económico, las variaciones económicas regionales y las políticas medioambientales y energéticas, serán factores decisivos que afectarán la demanda mundial de productos madereros a largo plazo. Si se siguen las tendencias históricas, se prevé que la producción y el consumo de productos madereros y de dendroenergía continuarán en aumento hasta el año 2030.

En los últimos años en casi todos los países latinoamericanos se continúa registrando una reducción en las existencias de madera de forestas naturales y se aprecia claramente un cambio hacia el abastecimiento a partir de madera plantada que contribuyen con el desarrollo sostenible. Las nuevas tendencias apuntan claramente hacia sistemas de producción de madera en forma competitiva para justificar las inversiones que se hacen en este proceso de producción.

Los avances en la investigación, en los programas de mejoramiento genético y en las técnicas de cultivo y manejo, se espera continúen reduciendo los plazos y aumentando la productividad de las plantaciones forestales en los próximos años. El costo de la tierra ha venido incrementándose en forma acelerada en los últimos años en todos los países latinoamericanos. Lo que obliga a sistemas de cultivo más eficientes, de menor costo, de mayor calidad y valor por árbol. Lo anterior, implica que los árboles que se incorporen a la silvicultura actual, deben necesariamente ser de la más alta calidad y productividad posible, con el fin de que su asociación asegure un impacto económico. Sin material proveniente de programas de mejoramiento genético, será muy difícil que la combinación madera + cultivos/ganadería logre sus objetivos esenciales.

El costo de la tierra ha venido incrementándose en forma acelerada en los últimos años en todos los países latinoamericanos, lo que obliga a sistemas de cultivo más eficientes, de menor costo, de mayor calidad y valor por árbol. El futuro de la actividad forestal está en lograr los más altos rendimientos en producción de madera por hectárea, de mejor calidad, en el menor tiempo y costo posible. Esto significa que debe hablarse del concepto de cultivo de la madera, de fincas o granjas de madera. En países con poca tierra disponible, las plantaciones forestales deben orientarse a incorporar especies del más alto valor posible. Aquí tiene poco sentido la producción de madera blanca y suave, por el contrario, debe orientarse la actividad hacia el cultivo de "maderas gourmet". Debe comprenderse que cada árbol que se plante tiene un costo y debe por tanto producir un ingreso al productor.

Las zonas tropical y subtropical poseen condiciones naturales en sus climas y suelos que permitirían que logremos los índices más altos de crecimiento y producción por hectárea, tal vez como ha ocurrido con otras especies cultivadas como café y banano. El sector forestal productivo debe desarrollarse basado en tecnología, en conocimientos, para que se posicione como un elemento importante en la economía del país.

Los mercados abiertos nos traen materia prima de muy alta calidad y bajo precio de Chile y Brasil. Pero nuestras especies forestales producen madera de mejor calidad y pueden crecer en un menor tiempo. Factores que podrían llevar nuestros productos forestales a aumentar las ventajas comparativas para lograr igualar o mejorar los niveles internacionales de competitividad.



*La duda es
la madre del
descubrimiento.*

Ambrose Bierce

4.-¿CÓMO SE LOGRA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO?

En la reforestación comercial, es necesario buscar los mejores árboles y la mejor semilla como material de reproducción para lograr las mejores plantaciones, ya que en la naturaleza existe tanto árboles de buen porte, como árboles no deseables que pueden producir descendencias muy productivas o, también progenies indeseables. La aplicación de los principios de selección genética y las leyes de la naturaleza, marcarán la diferencia, que permitirá obtener ganancias través de árboles con características deseables. Pero debe entenderse también que la productividad no depende sólo del papel de la genética, sino que es el resultado de la combinación de dos sistemas: el componente genético (selección y heredabilidad) y el componente ambiental, que considera dónde y cómo crecerá el árbol. Es de resaltar que la principal ventaja del mejoramiento genético forestal radica en que una vez que se logra la ganancia genética en cualquier carácter, ésta puede mantenerse por muchas generaciones. Lo que resulta muy ventajoso a nivel económico, aún cuando el costo inicial de obtención de árboles de excelente calidad genética pueda ser considerable (Nieto *et al.*, 2007).

El mejoramiento genético se basa en un flujo constante de acciones como se muestra en la Figura 2. En esencia, consiste en una selección permanente y certificación de calidad genética de materiales. Una vez seleccionado el mejor material disponible, se procede a su aislamiento de la población original, para poder realizar luego cruzamientos entre los individuos elegidos. De la población base de árboles superiores, se vuelve a seleccionar los mejores 15 a 20 genotipos que conformarán una subpoblación comercial o élite. Esta subpoblación comercial podrá ser propagada de dos maneras: sexual o asexualmente, con sus respectivas diferencias en ganancia genética y velocidad de multiplicación.

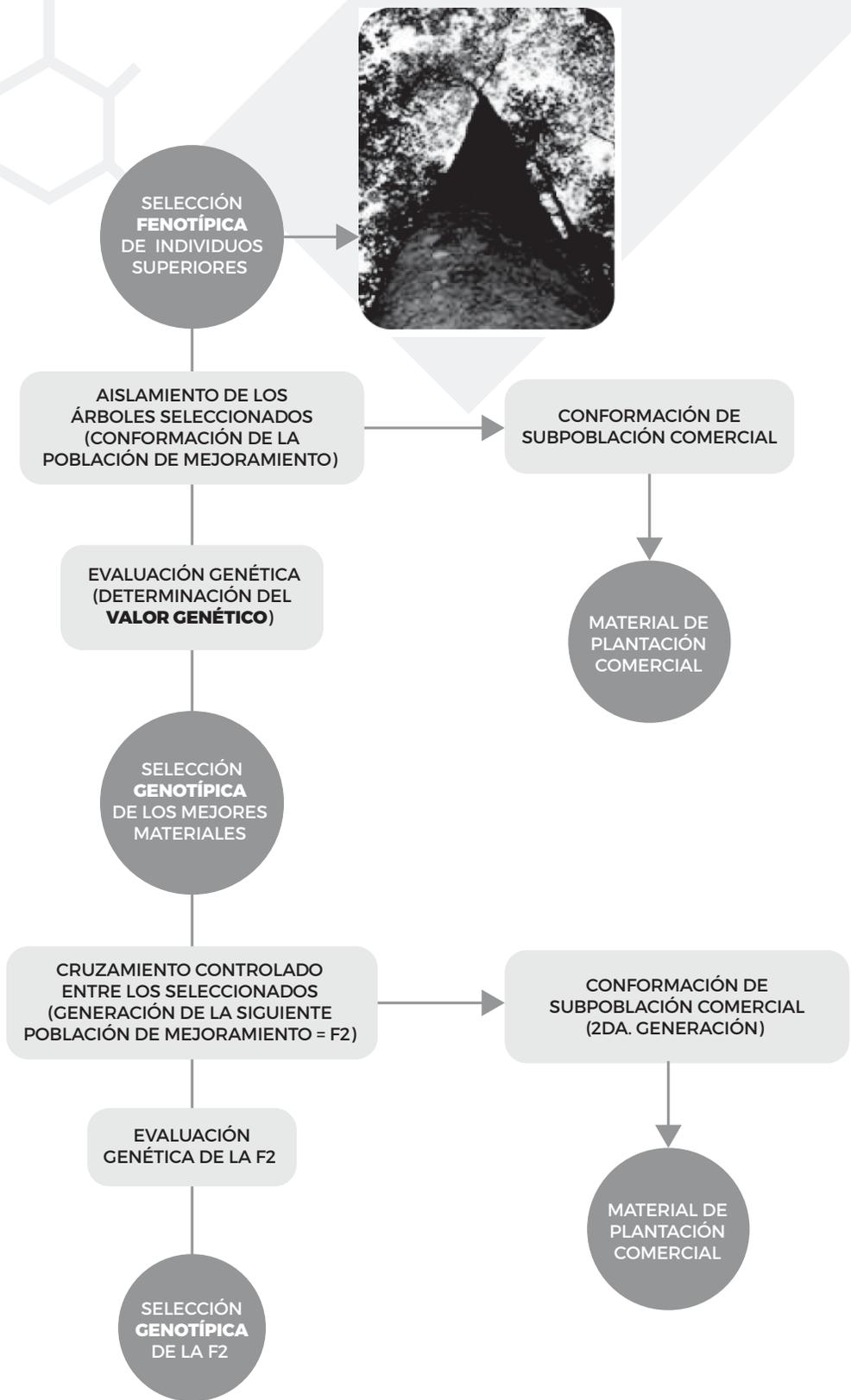


FIGURA 2. FLUJO DE EVENTOS EN UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

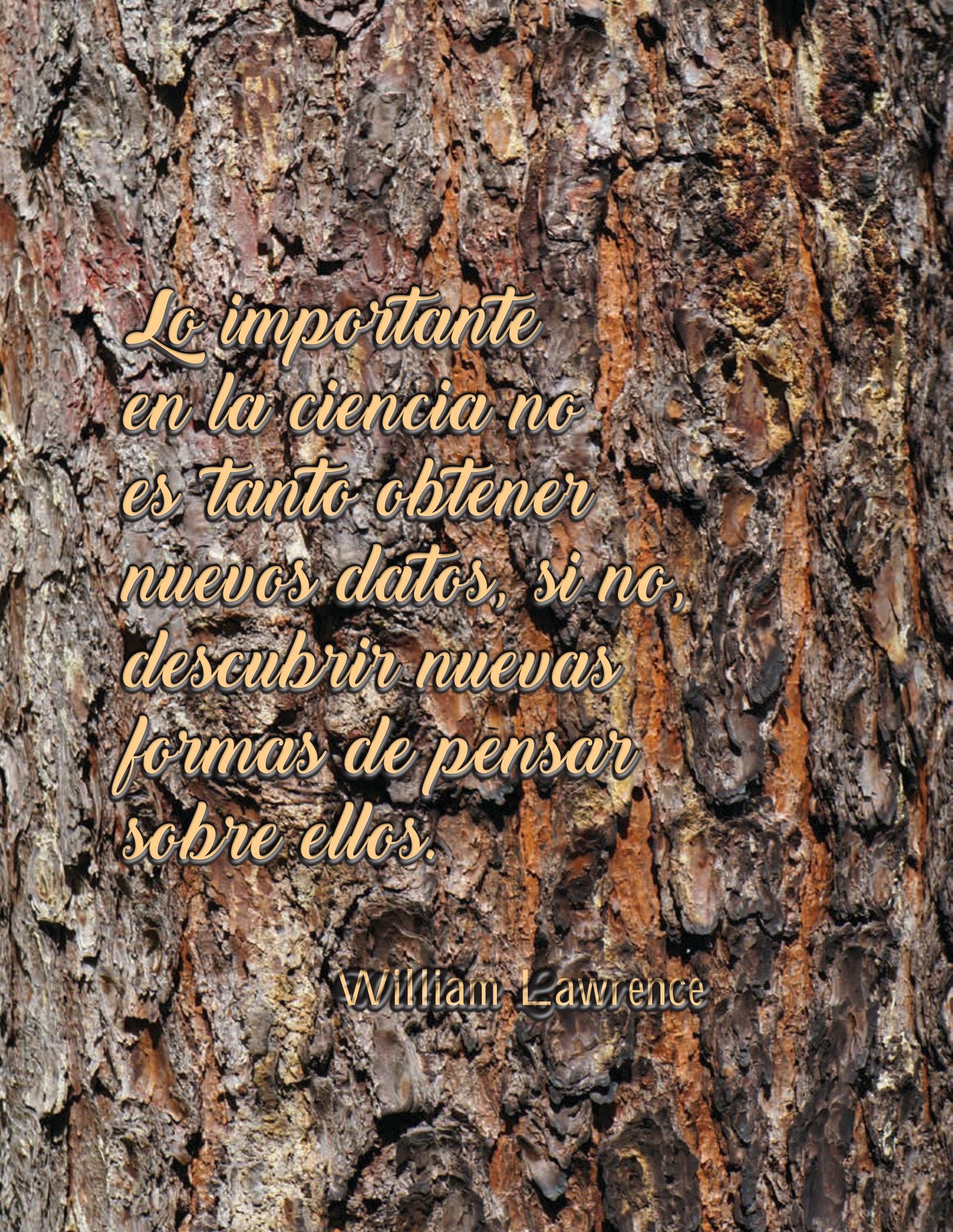
5.-¿CUÁNTO DURA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN GENERAR RESULTADOS?

Un programa de mejoramiento genético forestal requiere disciplina y trabajo sistemático durante varios años para obtener resultados. Sin embargo, dependiendo de la estrategia de mejoramiento a seguir, se puede tener material seleccionado y de mucho mayor rendimiento en poco tiempo, que sin duda superará sustancialmente al material tradicionalmente empleado en plantaciones.

- a) Si se utiliza la estrategia clonal, en aproximadamente 1 a 2 años se puede iniciar con el establecimiento de plantaciones clonales comerciales con material de alto rendimiento.
- b) Si se utiliza la estrategia de semilla, en aproximadamente 4 a 6 años (dependiendo de la edad de inicio de floración de la especie) se tiene semilla mejorada para abastecer la demanda de plantaciones. Una opción intermedia es la de establecer rodales semilleros, que producirían semilla con un nivel bajo de mejoramiento (<10%) a partir del primer año (Murillo & Badilla, 2005).

Los cambios vertiginosos en el mejoramiento genético han logrado transformar la producción de plantas en sistemas clonales, donde se controla su calidad con los estándares más altos. Toda la cadena de calidad se inicia precisamente al lograr llevar a campo el mejor material genético posible, que debe contar con una certificación genética, que garantice su superioridad en crecimiento, calidad del fuste y calidad de su madera, como parte normal de un buen programa de mejoramiento genético.

Las nuevas técnicas han permitido seleccionar material con tiempo de cosecha menor. Los avances en la investigación en los programas de mejoramiento genético y en las técnicas de cultivo y manejo, se espera continúen reduciendo los plazos y aumentando la productividad en los próximos años.



*Lo importante
en la ciencia no
es tanto obtener
nuevos datos, si no,
descubrir nuevas
formas de pensar
sobre ellos.*

William Lawrence

6.-¿CUÁL SERÍA LA GANANCIA O BENEFICIO QUE SE ESPERARÍA DE UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO?

En una primera generación de mejoramiento genético se estima que se obtendría alrededor de un 20% adicional de volumen, aproximadamente un 25% de aumento en el número de árboles por hectárea de alta calidad maderable (Calidad 1 ó 2), así como una reducción de aproximadamente 1-2 años en el periodo de tiempo para alcanzar dimensiones de cosecha final. Por lo general, se logra también un mejoramiento en las propiedades y características de la madera en cuanto a su densidad (aproximadamente 10% de aumento), fibra recta, formación temprana de duramen y de madera adulta, que impactará positivamente su industrialización.

Esto significa en términos prácticos, que si antes del mejoramiento obteníamos una cosecha final promedio de 100 árboles/ha con muy buenas características maderables (calidad 1 y 2) en 18 años de plantación, con una primera generación de mejoramiento se obtendrían los valores esperados que se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1. ESCENARIO ESPERADO DE UNA PRIMERA GENERACIÓN DE UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO, CON BASE EN UNA GANANCIA GENÉTICA ESPERADA DE UN 20% EN VOLUMEN, UN 25% EN CALIDAD Y UN AÑO EN EL TIEMPO DE COSECHA.

POBLACIÓN	DAP PROMEDIO (CM)	VOLUMEN POR ÁRBOL HASTA 10 M DE ALTURA	Nº DE ÁRBOLES / HA N1 Y N2	VOLUMEN / HA COSECHA DE N1 Y N2	INCREMENTO MEDIO ANUAL DE N1 Y N2
Sin Mejoramiento (18 años)	35	0.67 m ³ (218 PMT)	100	67 m ³ (21,775 PMT)	3.72 m ³ /ha/año
Con Mejoramiento (17 años)	38.3	0.80 m ³ (20% ganancia) (260 PMT)	125% (25% ganancia)	100 m ³ (32,500 PMT)	5.88 m ³ /ha/año

PMT = Pulgadas Madereras Ticas. 1m³ = 362 PMT
 N1 y N2 = Cantidad de árboles/ha de calidad 1 y 2

CONCEPTOS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

Si antes del mejoramiento se necesita cosechar 14.9 hectáreas para obtener 1,000 m³ de madera de buena calidad para abastecer una industria, con una primera generación de mejoramiento se necesitará cosechar un año antes 10 hectáreas para obtener los mismos 1,000 m³. Esta misma empresa u organización necesitaría tener plantado 268.2 hectáreas (14.9 ha * 18 años) para abastecer en forma sostenible su industria. Con un programa de mejoramiento genético necesitaría tener plantado 170 hectáreas (10 ha * 17 años) para lograr los mismos objetivos de producción.

Con cada generación adicional de mejoramiento es de esperar que el nuevo material continúe reduciendo estos valores en un 20%-25% (aproximadamente cada 8-10 años). Mientras que la cantidad de árboles de calidad 1 y 2 se acercará poco a poco al 100% de los individuos plantados. El turno de producción podría continuar descendiendo en alrededor de 1 año por generación de mejoramiento.

Desde el punto de vista económico, según Ipinza (1998), los proyectos de mejoramiento genético muestran interesantes niveles de rentabilidad. En Chile el proyecto de la Cooperativa de Mejoramiento Genético sobre propagación clonal exhibe una tasa interna de retorno (TIR) que fluctúa del 24% al 39%. El proyecto FONDEF del Instituto Forestal que trata sobre Mejoramiento Genético de Eucaliptos en Chile, muestra una TIR que alcanza el 40%. De igual forma existe consenso entre muchos mejoradores a nivel mundial, que con un incremento del 4% por conceptos de ganancias genéticas se cubren los costos de un programa de mejoramiento genético.

7.-¿CONTINÚA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN EL TIEMPO?

El proceso descrito anteriormente es lo que se denomina como una primera generación de mejoramiento.

Con los resultados de los ensayos de evaluación de los clones o los ensayos de progenie en al menos tres localidades productoras ecológicamente diferentes, se puede obtener los parámetros genéticos del programa (Varianzas, covarianzas, componentes de varianzas, heredabilidades, diferencial de selección y ganancias genéticas obtenidas, entre otras).

Con esta información, por lo general, se elimina el 50% de las familias o clones inferiores, mientras que el material que demostró un rendimiento superior, permanece para conformar la base de la segunda generación de mejoramiento.

Se continúa entonces con la realización de cruzas controladas (con polinización artificial) entre los individuos de ésta segunda generación de mejoramiento.

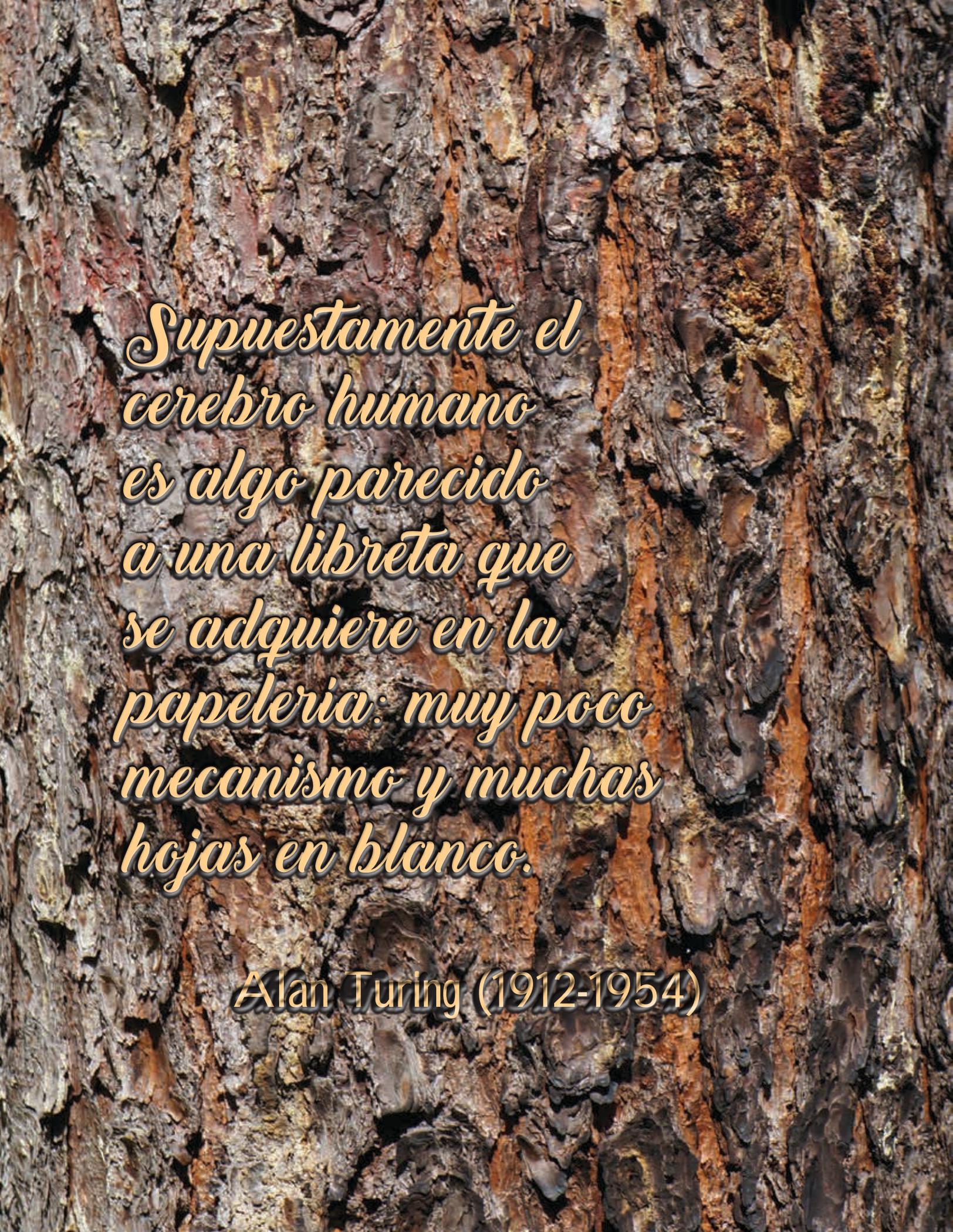
Se obtiene semilla (descendencia) y se evaluará en ensayos de progenie de segunda generación en al menos tres localidades productoras diferentes, que tardarán unos 6 años en brindar la información genética.

Estos ensayos se convierten en Huertos Semilleros de segunda generación o, se clonan los mejores individuos, dependiendo de la estrategia de mejoramiento a seguir.

Esta segunda generación de mejoramiento, por lo general, genera aproximadamente un 25% adicional en volumen y rendimiento, así como material mucho más homogéneo.

De ésta manera continúan obteniéndose nuevas generaciones de mejoramiento cada 8-10 años, aportando nuevo material con una ganancia genética esperada 20%-25% cada vez.

El proceso de optimización de las ganancias genéticas no termina sólo con el uso de semilla sexual, ya que en forma adicional, si se desarrolla la estrategia de mejoramiento genético vía clonal, las plantaciones aumentarán drásticamente su homogeneidad. Con esto se reducen los costos de podas y raleos, pues casi todos los árboles son de calidad maderable. Se podría lograr que hasta el primer raleo sea rentable y se disminuya sensiblemente los costos de cosecha y transporte. La industria recibiría materia prima mucho más homogénea y aumentaría sus rendimientos en el procesamiento de la madera.



Supuestamente el cerebro humano es algo parecido a una libreta que se adquiere en la papelería: muy poco mecanismo y muchas hojas en blanco.

Alan Turing (1912-1954)

8.- ¿SERÁ EL MATERIAL GENÉTICO DE LA ORGANIZACIÓN O EMPRESA EL MEJOR?

Por regla general, se encuentra mejor material en otras organizaciones o países que con el que se da inicio a los programas de mejoramiento genético de una organización. Por ésta razón es fundamental el desarrollo de modelos cooperativos o de alianza e intercambio de material genético entre empresas u organizaciones al estilo de varios programas, entre los que se destaca el de GENFORES en Costa Rica. No solo ocurre que el material de una empresa podría generar mayores rendimientos en las condiciones de sitio de otra organización, sino que el avance de los programas de mejoramiento exige mantener una **base genética amplia**, que garantice que el material no estará altamente emparentado al cabo de 3 generaciones de mejoramiento genético.

Es común también, que exista material genético de procedencias fuera del país, que podría superar inclusive al mejor material mejorado localmente. Esta labor de prueba de material externo se le denomina **ensayos de procedencia** y es tarea fundamental en todo programa bien estructurado de mejoramiento genético. Con el apoyo de otras empresas u organizaciones dentro de GENFORES, es posible disminuir los costos de traída y evaluación de material de procedencias.

En los últimos años ha florecido una mayor coordinación y visión de la ciencia entre la academia y el sector productivo, ha ocurrido una mayor integración entre universidades, centros e institutos de investigación, con el sector productivo. Los enfoques cooperativos y los estímulos a través del Estado, mediante el apoyo económico a los consorcios y la visión de cadena o cluster, reflejan un significativo aporte al avance en el mejoramiento genético, aumentando la capacidad productiva, competitiva y sostenible del sector agrícola y forestal nacional, y fortaleciendo su importancia como actor relevante de nuestra economía.

CONCEPTOS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

La existencia de las cooperativas de mejoramiento genético obedece a diferentes consideraciones, entre las cuales se destacan dos aspectos que resultan especialmente relevantes. El primero de ellos hace relación a la rentabilidad que representa el invertir en mejoramiento genético, mientras que el segundo se apoya en las ventajosas condiciones que representan las economías de escala al abordar el trabajo en forma conjunta.

Efectivamente, basta una pequeña ganancia en volumen para obtener incrementos significativos en la productividad de plantaciones y financiar los costos de un programa de mejoramiento.

Por otra parte, el trabajo de mejora genética es una rama de la ciencia de relativamente alta complejidad, acelerado cambio tecnológico y que exige considerables recursos económicos tanto físicos como profesionales.

No obstante, sus resultados pueden ser transferidos a muchas empresas, lo cual permite beneficiarse en forma significativa de las economías de escala que se producen, evitando en gran medida la duplicidad de ensayos de diferente índole que tienen por objetivo estimar los valores genéticos en general.

Se ha demostrado que los programas colectivos de mejora tienen costos significativamente menores que los programas llevados a cabo en forma individual. Al trabajar con criterios, normas y especificaciones estandarizadas, se ahorra tiempo y dinero en las diferentes actividades y especialmente, se logran resultados comparables y equivalentes que afectan la eficiencia y el costo de las siguientes generaciones de mejoramiento.

Existen en el mundo muchas cooperativas de mejoramiento genético forestal. Hay cooperativas en Estados Unidos (7), Nueva Zelandia (1), Australia (2), Chile (2), Brasil (1) y en otros lugares. Ejemplos de esta forma de abordar el mejoramiento genético forestal con resultados exitosos, son las diversas cooperativas existentes en países forestalmente desarrollados, entre ellas: **a)** Cooperative Research Centre for Sustainable Forestry Production (Australia), **b)** Eucalypt Breeding Cooperative (Nueva Zelandia), **c)** Radiata Pine Breeding Cooperative (Nueva Zelandia), **d)** North Carolina State University-Industry Cooperative as a Tree Improvement Program (Estados Unidos), Central America Conifer Resources (CAMCORE, USA); Cooperative Forest Genetics Research Program (Estados Unidos), **e)** Pacific Northwest Tree Genetic Engineering Research Cooperative (Estados Unidos) y **f)** Tree Improvement Cooperative (Estados Unidos). En América Latina se destacan (Gutiérrez et al, 2003), las cooperativas: GENFORES (Costa Rica), COMFORE (Colombia) y CMGF (Chile).

Los esquemas cooperativos de mejoramiento corresponden al enfoque de los «clubs», en lo que se refiere a la forma de operar, tamaño, composición, tipo de beneficios, objetivos comunes de los socios (empresas), número de socios que eventualmente pueden participar, apropiación relativa de los resultados e igualdad de utilidad unitaria para los participantes. Estas características le confieren una alta probabilidad de éxito operativo.

Delmastro y Balocchi, citados por Gutiérrez *et al.*, (2003), señalan como principales ventajas del trabajo cooperativo en mejoramiento genético, las siguientes:

- a) El principio básico del mejoramiento forestal se basa en la **selección de los progenitores**, por lo tanto la intensidad de selección es un buen predictor de las expectativas de ganancia de los programas. El sostenimiento de una tasa alta de intensidad de selección en el largo plazo, requiere del manejo de poblaciones de mejoramiento de gran tamaño, con las implicancias de costo y recursos humanos que esto implica.
- b) El manejo cooperativo de la población base permite a las empresas concentrar los esfuerzos y recursos en el desarrollo y explotación de las **poblaciones élites y de producción**, que son desarrolladas con objetivos específicos y para las condiciones ambientales de cada empresa.
- c) Aunar esfuerzos para **ejecutar proyectos de desarrollo tecnológico de interés común**, tanto en el ámbito nacional como internacional. Los proyectos cooperativos presentan beneficios significativos en el costo de ejecución, además en muchos casos facilitan la postulación a fuentes de financiamiento. Estos proyectos generan tecnología que queda disponible para las empresas para su aplicación operacional.
- d) Establecer nexos internacionales que se generan con otras cooperativas, universidades y centros de investigación. Estos nexos permiten acceder a información, consultorías y capacitación que muchas veces no está disponible para empresas individuales.
- e) Permanente intercambio de información técnica entre los miembros, lo que permite optimizar los programas operacionales.
- f) Intercambio de material genético dado que existe una estandarización del valor de los padres de cada programa.

A pesar de la existencia de los modelos cooperativos de mejoramiento genético forestal en muchas partes del mundo, no se ha logrado una verdadera cooperación entre las organizaciones y empresas operadoras en Colombia. Se ha propuesto la necesidad de definir y legislar sobre el **Sistema de protección de propiedad intelectual y Derechos de obtentor de variedades vegetales para especies forestales, de igual forma como se ha realizado con los cultivos agrícolas**. Para el sector forestal se requiere la definición de "Propiedad intelectual y Derechos de obtentor, tanto de familias como de clones", lo cual viene promoviendo recientemente en Colombia las grandes empresas forestales con programas de mejoramiento genéticos sólidos. Esto sin duda alguna incentivaría al sector productivo a realizar una mayor inversión en mejoramiento genético forestal, garantizar la propiedad intelectual de sus genotipos y cobrar por el uso de su material mejorado a los reforestadores.

CONCEPTOS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

Por muchos años, los programas de mejoramiento genético de cultivos, árboles y animales en el mundo fueron mayoritariamente dirigidos por entes públicos y financiados por el estado. Ello conllevó a que no se diera importancia a la propiedad intelectual y a los derechos de obtentor vegetal. Pero el tema ha emergido con fuerza en los últimos años en el sector forestal, donde los entes privados han pasado a ser actores con mayor protagonismo en el mejoramiento genético forestal, mientras que el sector público concentra sus esfuerzos en otras áreas.

Ésta situación ha traído como consecuencia que los cultivares (agrícolas y forestales) liberados al mercado lleven el concepto de **propiedad intelectual**, lo que obliga al pago de **derechos a los obtentores** de las mismas. La propiedad intelectual de genotipos vegetales data de 1961, con el primer tratado en dicha materia donde fue creado el **sistema UPOV** (Convenio Internacional para la Protección de los Vegetales). Varios países latinoamericanos están adscritos a las actas de la UPOV - 1978 y ya deberían estarlo también a las de 1991, donde hay compromisos internacionales que deben asumirse.

9.-¿QUÉ EFECTOS PUEDE TENER EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN LA SILVICULTURA TRADICIONAL?

Siempre se ha establecido que se puede tener el mejor material mejorado, pero si la silvicultura no evoluciona junto con el mejoramiento, las ganancias se podrían disminuir considerablemente hasta menos de la mitad de lo esperado.

Las técnicas de producción en vivero, de preparación mecanizada del sitio, de fertilización y de distancia inicial de siembra, son las que mayor impacto aportan junto con los programas de mejoramiento genético. La tecnología de reforestación clonal a diferencia de la reforestación con material de origen sexual, implica material de menor tamaño, preparado en un pote (cassette, tubo, bolsa, etc.) diferente y exige una mejor preparación y manejo del terreno. El control de malezas inicial y la fertilización, adquieren especial importancia.

Cuando se tienen clones o semilla de alto rendimiento, es natural que se desee buscar otro espaciamiento inicial. Se desea por lo general retardar un poco más el primer raleo para incrementar su diámetro, ya que todos los árboles son de alto valor comercial. Se busca optimizar crecimiento y rendimiento por hectárea con calidad de fustes y con una disminución del costo inicial de establecimiento. Se requiere también reducir los costos de mantenimiento de la plantación, al utilizar un espaciamiento que permita la mecanización de estas labores.

Las podas y raleos en plantaciones clonales se pueden planificar para que se ejecuten en forma sistemática y no selectiva como se hace en la actualidad. Esto produce menos costos de supervisión técnica, aumenta el rendimiento de las labores, posibilita su mecanización y facilita el desarrollo de sistemas de contratos con empresas especializadas en labores silvícolas.

La organización de las plantaciones clonales en campo pueden ser de dos tipos: a) lotes mixtos de clones y b) lotes monoclonales. En la población de mejoramiento, es usual la presencia de clones con una amplia capacidad de adaptación a diversidad de sitios (generalistas y altamente deseados) y clones de alta productividad pero en sitios específicos (selectivos).

- a) **Lotes de clones mixtos:** En programas jóvenes de mejoramiento genético, no se recomienda el establecimiento de lotes monoclonales, hasta tanto los ensayos genéticos de campo permitan ir paulatinamente determinando cuáles de los clones tienen un alto Valor Genético, y cuáles de los clones se adaptan bien a las condiciones de sitio (suelo y clima) donde se planta comercialmente.
- b) **Lotes monoclonales:** Se recomienda para programas avanzados, donde hay información sobre adaptabilidad y superioridad de clones individuales en cada condición de sitio. En una primera generación de plantaciones clonales, no se recomienda establecer lotes monoclonales mayores a 5 ha, hasta tanto los ensayos genéticos permitan aumentar la escala de plantación.

En ambos tipos de plantaciones clonales, se deben utilizar no menos de 15 genotipos, con el fin de garantizar una variabilidad genética mínima en campo. En la (Figura 3), se ilustra una plantación en lotes monoclonales, que conforman un mosaico de clones

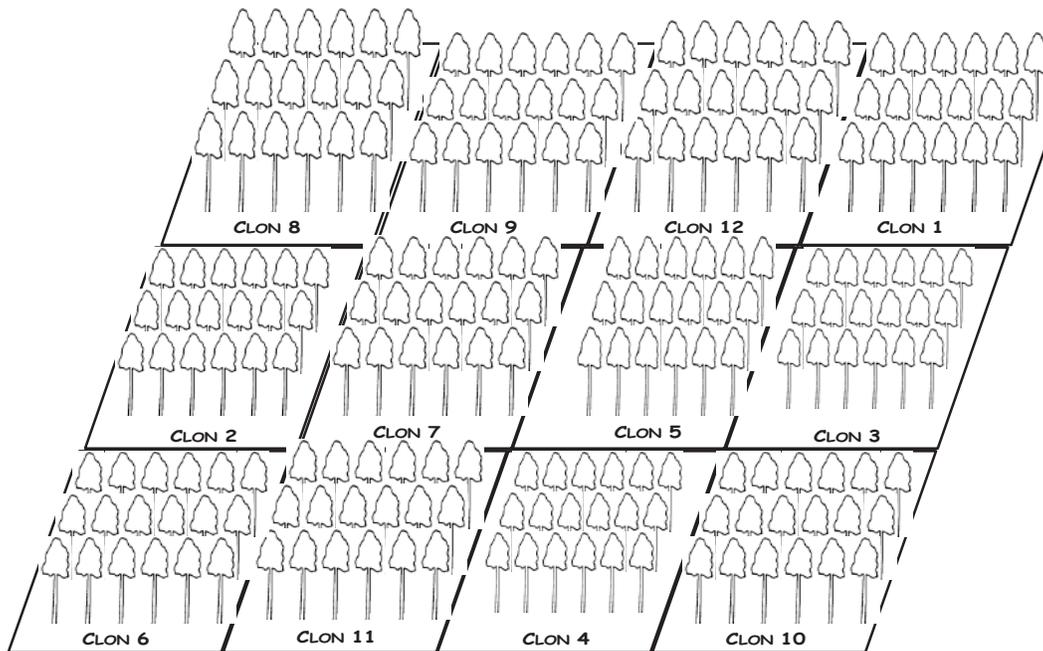


FIGURA 3: MUESTRA DE UNA PLANTACIÓN EN LOTES MONOCLONALES (MURILLO Y BADILA, 2005)

BIBLIOGRAFÍA

- Aramendiz, H.; Espitia, M.; Cardona, C. 2010. Mejoramiento genético de plantas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba. Impreso universitario. 327p.
- FAO. 2010. Evaluación de los recursos forestales mundiales 2010. <http://www.fao.org/forestry/fra/fra2010/es/> (Acceso: Mayo/5/2010).
- FAO, 2009. Situación de los bosques del mundo 2009. División de Comunicación. ISBN 978-92-5-306057-3. Roma. 176p. <http://www.fao.org/docrep/011/i0350s/i0350s00.HTM> (Consultado: enero/20/2010).
- FAO. 2007. Tendencias y perspectivas del sector forestal en América Latina y el Caribe. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0470s/> (Consultado: Marzo/12/2008).
- Gutiérrez, B.; Quintero, P.; Nieto, V.; Murillo, O. 2003. Enfoques cooperativo para el mejoramiento genético y la conservación de los recursos forestales en Chile, Colombia y Costa Rica. Invest. Agrar.: Sist. Recur. For. (2003) 12 (3):111-122
- Ipinza, R. 1998. Mejoramiento Genético Forestal. Santafé de Bogotá, agosto de 1998. Serie Técnica No.42. 162 p.
- Vallejo, F. A. Y Estrada, S. E. 2002. Mejoramiento Genético de Plantas. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Editorial Feriva S.A. Colombia. 402 p.
- MADR-Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y CONIF-Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal. 1998. El Plan estratégico sobre mejoramiento genético de *Cordia alliodora* y *Tabebuia rosea* en Colombia. Serie de Documentación No. 29. CONIF. Santafé de Bogotá. 40p.
- MADR-Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. 2007. Cadena productiva forestal-tableros aglomerados y contrachapados-muebles y productos de madera. 176p. <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/documentosUNINuke.asp> (Consultado: febrero/21/2009).
- Murillo, O. y Badilla, Y. 2005. ¿Qué es mejoramiento genético forestal? Manual. Taller de Publicaciones del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Ingeniería Forestal. Cartago, Costa Rica. 14 p.
- Nieto, V.; Ipinza, R.; Salas, M. 2007. Los árboles y el sexo. Revista El Mueble y la Madera. Vol. 57: 18-24.
- Zobel, B. Y Talbert, J. 1988. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. Ed. Limusa. México D.F. 545p.

CONCEPTOS DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO FORESTAL

AUTOR:

OLMAN MURILLO

M. ESPITIA

C. CASTILLO

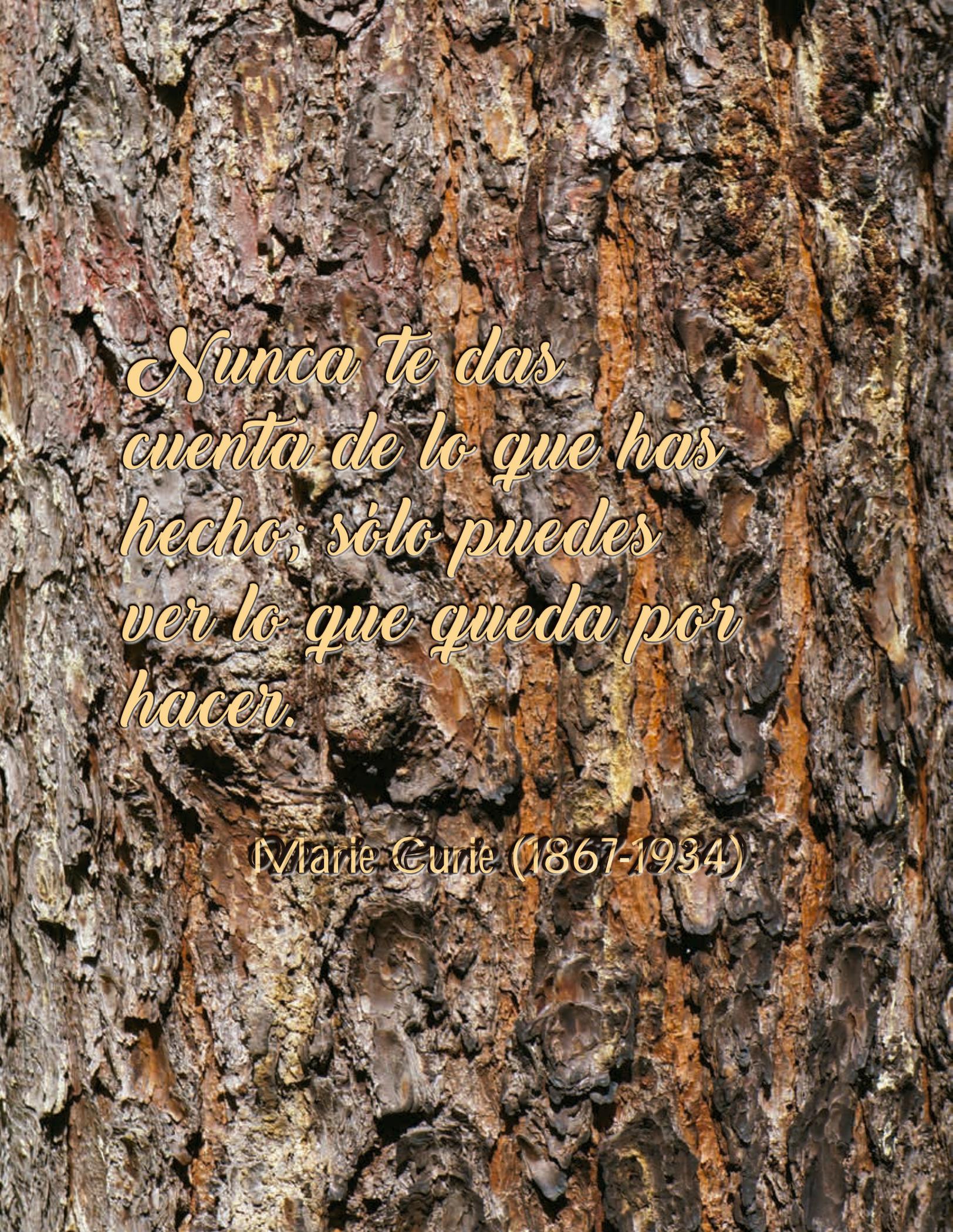
DICIEMBRE 2017



CONTENIDO

UNIDAD 2

1.- DEFINICIONES Y CONCEPTOS GENERALES.....	33
2.- IMPORTANCIA DE LA MULTIPLICACIÓN VEGETATIVA DEL ÁRBOL PLUS.....	41
3.- PROCESO DE CAPTURA VEGETATIVA DEL ÁRBOL PLUS.....	45
4.- IMPORTANCIA Y EVOLUCIÓN DEL JARDÍN CLONAL.....	51
5.- ESTABLECIMIENTO Y MANEJO DEL JARDÍN CLONAL.....	55
PREPARACIÓN Y MANEJO DEL TERRENO PARA EL JARDÍN CLONAL AL AIRE LIBRE ..	55
TAMAÑO DEL JARDÍN CLONAL.....	56
TAMAÑO DEL INVERNADERO.....	57
MANEJO DEL JARDÍN CLONAL.....	58
SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CLONES EN POTES.....	59
SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CLONES EN SISTEMAS HIDROPÓNICOS.....	60
BIBLIOGRAFÍA.....	63



*Nunca te das
cuenta de lo que has
hecho; sólo puedes
ver lo que queda por
hacer.*

Marie Curie (1867-1934)

1.- DEFINICIONES Y CONCEPTOS GENERALES

Una de las características fundamentales de los organismos vivos, es la capacidad de reproducción. Esta propiedad, la poseen todos los organismos individuales y a nivel de poblaciones. En la implementación de un programa de mejoramiento genético y siembra comercial de cualquier especie, es importante conocer el modo de reproducción y la biología reproductiva, de tal manera que ello debe de preceder cualquier consideración sobre los métodos de mejoramiento.

En el mejoramiento genético de plantas y el uso de sus productos, el éxito depende del conocimiento de los procesos reproductivos. Estas técnicas de mejoramiento deben contemplar muchos aspectos de la reproducción, entre ellos tenemos:

- a) Reproducción sexual, asexual o la combinación de las dos
- b) Estructura floral
- c) Cantidad de transferencia o flujo de polen
- d) Grado y significado de la autoincompatibilidad, y
- e) Efecto de la endogamia sobre el vigor, entre otros.

La importancia de la reproducción es obvia, ya que es el requisito para perpetuar la especie o una población a través del tiempo y es el único medio de multiplicación, por el aumento numérico de individuos y colonización de nuevos territorios. La reproducción de las plantas se puede estudiar desde dos puntos de vista: a) reproducción sexual ó biológica y b) reproducción asexual ó vegetativa.

a) La reproducción sexual ó biológica implica la formación (gametogénesis) y posterior unión de gametos masculinos y femeninos, a través de un proceso conocido como fecundación; generando variaciones hereditarias en la especie, las cuales constituyen la materia prima necesaria para la respuesta o adaptación de las especies a las condiciones ambientales heterogénea o cambiante.

b) La reproducción asexual ó vegetativa es el proceso mediante el cual se multiplica o propaga un solo individuo mediante algún proceso de gemación y ello garantiza que todos los individuos resultantes son genéticamente idénticos (clon) y se minimiza el origen de tipos recombinantes. Ello se debe a que en este proceso no participan las células reproductivas, no hay unión de gametos masculinos y femeninos, no hay reducción cromosómica o meiosis, ocurriendo sólo la mitosis, es decir la constitución genética y cualidades hereditarias son idénticas en todos los descendientes.

La reproducción asexual se lleva a cabo en plantas cuya reproducción es exclusivamente a través de partes vegetativas, sin embargo, en este grupo se encuentran plantas que poseen órganos sexuales funcionales con capacidad de reproducirse sexualmente, pero en la práctica lo hacen asexualmente por medio de: estolones, acodos, bulbos, rizomas, tubérculos, estacas, esquejes, raíces, tallos, hijuelos, injertos, hojas o por medios artificiales de reproducción como el cultivo de tejidos etc, este es el caso de muchas especies forestales.

En este tipo de reproducción (asexual) bajo condiciones normales, hay que destacar lo siguiente:

- a) No se produce reducción cromosómica, recombinación y variabilidad genética,
- b) Las células se reproducen por mitosis.
- c) Las células resultantes bajo condiciones normales poseen igual genoma y genotipo que la célula madre y
- d) todos los individuos resultantes poseen cualidades hereditarias iguales a los del individuo de donde provienen.

La reproducción vegetativa o asexual se agrupa en propagación vegetativa y apomixis. La reproducción asexual por apomixis, es un sistema de reproducción, en la cual los propágulos son estructuras desarrolladas dentro de los óvulos de los ovarios y morfológicamente forman las semillas o frutos, pero sin fecundación. La meiosis característica de la reproducción sexual no ocurre o no es funcional. La oosfera contiene el número de cromosomas somáticos maternos iguales, no ocurre fusión de gametos sexuales durante la fertilización y el desarrollo del embrión es independiente, generando por lo tanto, una planta idéntica a la planta madre. Se encuentra reportada en 30 a 40 familias y en aproximadamente 300 especies de las angiospermas (Araméndiz et al., 2010).

Entre las ventajas de la reproducción asexual o vegetativa, se tienen:

- a) Las plantas originadas de un mismo individuo (clon) son genéticamente idénticas, lo que significa que un genotipo seleccionado o mejorado se puede multiplicar, propagar y conservar uniforme todos sus caracteres, aún cuando sea heterocigoto.
- b) Los clones de igual constitución genética, pueden registrar variación por efecto del ambiente, pero cuando ocurre mutación, variación somaclonal o sucede un cruzamiento favorable, este se puede seleccionar y mantener como un nuevo genotipo de interés.
- c) En cruzamientos o manipulaciones de otro tipo, cuando se generan plantas estériles (no producen semillas), éstas se pueden mantener a través de reproducción vegetativa.
- d) Obtención de cosechas en un menor período de tiempo, en comparación de lo que demanda el uso de la semilla sexual.
- e) La falta de producción de semilla, puede proporcionar mayor valor a la parte vegetativa útil de la planta, por una mayor concentración de azúcares, aminoácidos, proteínas, aceites, fibras, etc., antes de la floración.
- f) La estabilidad genética de los clones se comprueba precisamente por la persistencia de los caracteres genéticos deseables en las plantas propagadas asexualmente.
- g) En especies dioicas no sería posible su reproducción de no ser vegetativamente. En especies forestales abundan los ejemplos de especies de importancia económica cuyo sistema reproductivo es dioico.

Entre las **desventajas de la reproducción asexual**, se relacionan:

- a) Alta uniformidad genética y fenotípica. Ello genera mayor riesgo potencial a enfermedades, plagas y variaciones del clima. De igual forma, no se puede esperar seleccionar nuevos tipos dentro de un clon, mientras no ocurran mutaciones.
- b) Origen de variación somaclonal. La pérdida de la identidad genética por efecto de las mutaciones nucleares y/o citoplasmáticas a causa del estrés de las células en el cultivo de explantes, puede ocasionar variaciones genéticas aneuploides (variación en unidades de cromosomas) y euploides (variación en juegos de cromosomas o nivel de ploidía) que comprometen la calidad de la semilla.
- c) Requiere mayor cuidado en el empaque y transporte del material vegetal. El volumen que implica el transporte de material asexual es mucho mayor que la semilla sexual, lo cual genera más cuidado en el empaque y transporte en algunas circunstancias.
- d) Mayor riesgo en la diseminación de enfermedades y plagas. Existe el riesgo de introducir enfermedades que solo se transmiten a través de las partes vegetativas y que raramente se transmiten por semilla (Araméndiz *et al.*, 2010).
- e) Mayores dificultades para la introducción, intercambio y comercio de material genético entre países, debido a mayores restricciones fitosanitarias y rigurosidad en los Análisis de Riesgo de Plagas (ARP) en los sistemas de control de cada país.

Mayor discusión sobre ventajas y desventajas de la propagación vegetativa y sexual en especies forestales, puede encontrarse en el trabajo de Murillo *et al.* (2001).

Según Cornelius & Ugarte-Guerra (2010), los aspectos claves con implicaciones más importantes para el mejoramiento genético dentro de la genética y biología reproductiva de los árboles tropicales, son:

- a) **Sus sistemas sexuales y sistemas de apareamiento**, especialmente la alta incidencia de **autoincompatibilidad**;
- b) Su alta capacidad para mantener el **flujo de alelos entre poblaciones** y
- c) **Su alta variabilidad genética.**
 - a) **El sistema sexual** se refiere a la distribución de los sexos en los árboles. Los árboles tropicales exhiben cuatro tipos principales, a saber:
 - 1) **Diocia o Dioicismo.** Este fenómeno se presenta en especies que tienen sus flores masculinas y flores femeninas separadas en árboles diferentes. A estos árboles en la literatura también se les conoce como **dioicos**, en razón a que tienen los **dos sexos separados en individuos diferentes.**
 - 2) **Monoecia o Monoicismo.** Se presenta en aquellas especies donde las flores masculinas y flores femeninas, se encuentran en el mismo árbol, pero en estructuras separadas. A estos árboles en la literatura también se les conoce como **Monoicos**, en razón a que tienen los **dos sexos en estructuras independientes, pero en un mismo individuo.**
 - 3) **Hermafroditismo o Monoclino.** Se presenta en aquellas especies donde las flores son perfectas, o sea presentan los dos sexos masculino (androceo) y femenino (gineceo) en la misma flor.

4) Bisexualidad. Se presenta en aquellas especies donde los árboles exhiben monoecia y hermafroditismo. Desde el punto de vista genético el resultado es casi idéntico.

En el caso de los árboles tropicales, Cornelius & Ugarte-Guerra (2010) señalan que el hermafroditismo es la condición más común (60-70% de las especies), seguido por la dioecia (alrededor de 20%) y la monoecia (un 10-15%).

b) El **sistema de apareamiento** en el contexto de los árboles, se refiere principalmente a la proporción de descendencias que son productos de cruces (polinización cruzada) entre árboles diferentes (alogamia), en contraste con los autocruces (autofecundación o autogamia). El parámetro más utilizado para describir el sistema de apareamiento es **t**, la tasa de alogamia. La estimación de **t** se hace normalmente utilizando marcadores moleculares. El valor de **t** varía entre 0 y 1; un valor de **t** = 1, indica alogamia total (100% de polinización cruzada), mientras que un valor de **t** = 0, indica autogamia total (100% autofecundación). Típicamente, en los árboles tropicales el valor de **t** es superior a **0.85**.

c) Otra fuerza importante que favorece la alogamia o la polinización cruzada natural es la **autoincompatibilidad**, que es el proceso mediante el cual los árboles de una especie no pueden autofertilizarse o autofecundarse, sino que el polen para la fecundación de su ovario debe provenir de otro árbol con un genotipo diferente. La incompatibilidad ocurre a nivel genotípico, es decir, un árbol vecino con el mismo genotipo tendría exactamente la misma repercusión genética que la autofecundación. Entre las características más importantes de este fenómeno tenemos (Cornelius & Ugarte-Guerra, 2010):

- Los experimentos de polinización controlada han demostrado que la gran mayoría (alrededor de 80%) de las especies de árboles tropicales son **autoincompatibles**.
- La autoincompatibilidad implica **altos niveles en la tasa de alogamia (t)**, en las especies tropicales.
- La autoincompatibilidad es controlada genéticamente.
- Existen diferentes grados de incompatibilidad. Algunos árboles individuales de “especies autoincompatibles” pueden mostrar cierto grado de compatibilidad.
- La autoincompatibilidad, así como la dioecia, tiene importantes implicaciones:
 - i.** Existe un constante movimiento e intercambio de polen (y por lo tanto de alelos) entre árboles de la misma especie, lo cual promueve la heterocigosidad.
 - ii.** Es muy difícil o imposible mejorar genéticamente la mayoría de los árboles utilizando las técnicas de desarrollo de líneas uniformes, e hibridación entre líneas que se han usado en algunos cultivos, como el maíz.
 - iii.** Debido a su alta heterocigosidad, las especies forestales frecuentemente tienen una carga genética alta de alelos nocivos o deletéreos. Por ser recesivos, estos alelos nocivos, normalmente se mantienen escondidos en individuos heterocigotes (portadores) y no se manifiestan. Sin embargo, cuando hay apareamiento entre parientes cercanos o entre individuos portadores, o también cuando la tasa de consanguinidad en la población es muy alta, aumenta el riesgo de expresión mediante individuos homocigotos para estos alelos deletéreos. En este caso estos alelos recesivos deletéreos pueden provocar problemas como el albinismo, un crecimiento raquítico o baja producción de semilla, estos efectos se les conoce como depresión endogámica.

- d)** Algunas especies no son autoincompatibles, por ejemplo, especies de *Pinus*, *Eucalyptus* y algunas de las especies tropicales como *Ceiba pentandra*. Estas especies normalmente tienen otros mecanismos para evitar la autofertilización o la autofecundación (precigóticos), por ejemplo, la **dicogamia** o asincronía floral (la dispersión del polen y la maduración de los estigmas del mismo árbol no coinciden en el tiempo). Así también se conocen mecanismos postcigóticos, que actúan y eliminan al individuo posterior a la fecundación y formación de la semilla, donde el albinismo es el más conocido. En estas especies también las progenies derivadas de autocruces (autofecundación) o incluso cruces entre parientes cercanos frecuentemente padecen de **depresión endogámica** (reducción del vigor, la fertilidad y aparición de características indeseables, como consecuencia de la expresión de genes deletéreos en estado homocigoto).
- e)** *Leucaena leucocephala* por ser **autocompatible**, pertenece al grupo pequeño que puede autofecundarse.
- f)** El **flujo de alelos** en los árboles tropicales se define y caracteriza por lo siguiente:
- **El flujo de alelos**, en general se define como “**flujo génico**”, lo cual corresponde tanto al **flujo polínico como a la dispersión de las semillas y frutos**. Ambos procesos entran en lo que se define como “**migración**” (flujo génico), lo que es considerado como una de las cuatro (4) principales fuerzas evolutivas. El flujo génico se define como el intercambio de alelos entre poblaciones. Ocurre a través de dos mecanismos principales: la dispersión de semillas-frutos y la dispersión de polen.
 - En un 90% (por lo menos) de los casos, el polen de los árboles tropicales normalmente es dispersado por insectos y otros animales, como los murciélagos. La dispersión por viento es poco común en las especies tropicales (los pinos tropicales y el aliso (*Alnus jorullensis*) representan una excepción importante).
 - i.** La mayor parte del polen es transportado hacia árboles relativamente cercanos. Sin embargo, los animales dispersores de polen son capaces de viajar grandes distancias y efectuar el movimiento de larga distancia del polen.
 - ii.** Por lo tanto, muchos grupos de árboles o árboles individuales que están aislados espacialmente **no necesariamente están aislados en términos reproductivos**. Intercambian alelos con otras poblaciones y así estas poblaciones “aisladas” se mantienen genéticamente variables mientras se encuentren en contacto de apareamiento.
 - La semilla y/o los frutos también pueden ser transportados por largas distancias, aunque la dispersión de polen contribuye más al flujo alélico.
 - Aunque una pequeña proporción del polen y la semilla/fruto puede viajar largas distancias, la mayor parte permanece cerca del árbol semillero. Como consecuencia, dentro de las poblaciones naturales ocurre con frecuencia la existencia de una **estructura o patrón genético espacial**, donde por lo general, el grado de parentesco entre los árboles es proporcional a la distancia física entre ellos. Como consecuencia, los árboles vecinos pueden ser primos, hermanos, padres e hijos, etc.

g) La **variabilidad genética** es un parámetro poblacional. Se puede considerar como el fenómeno mediante el cual una población está constituida por individuos con genotipos diferentes que se expresa en un amplio rango de variación de características biológicas. La variabilidad genética está determinada por los mecanismos de reproducción sexual o biología reproductiva, la autoincompatibilidad, el flujo génico, el tamaño efectivo de la población, la tasa de mutación y la presión de la selección natural. La variabilidad genética es una condición necesaria en las poblaciones forestales para que el mejorador pueda realizar la selección y obtener progresos significativos en las características de interés. Entre las características principales de la variabilidad genética, tenemos:

- La **variabilidad genética** se puede determinar de dos maneras principales. En términos de variación con marcadores moleculares y segundo, en términos de variación morfológica. Al hablar de variación morfológica se entiende como la expresión de caracteres de forma, pero esta variación podría verse también en constantes fisiológicas, de concentración de determinados compuestos, etc. Una manera de incluir a todos estos otros caracteres que en general tienen variación continua y son poligénicos es hablar de “caracteres métricos” o “morfométricos”.
- La variación genética a nivel molecular se expresa con parámetros genéticos como **P** (el porcentaje de loci polimórficos), **A** (el número de alelos por locus y su frecuencia en la población, o riqueza alélica) y **He** (diversidad génica o heterocigosidad esperada).
- Las especies de árboles tropicales por lo general exhiben altos niveles de variación genética molecular.
- Esta variación genética normalmente demuestra una estructura espacial y puede ser separada en componentes interpoblacionales e intrapoblacionales.
- Normalmente, en los árboles tropicales la mayor parte (un 85-90%) de la variación se concentra a nivel intrapoblacional.
- La alta variabilidad intrapoblacional se debe en gran medida a la autoincompatibilidad y a otros mecanismos que impiden la autofertilización y promueven la heterocigosidad.
- La poca variabilidad entre poblaciones se explica principalmente cuando ocurre un importante flujo alélico, el cual ejerce un efecto homogenizador.
- Cuando el flujo alélico es inexistente o casi inexistente (ej. poblaciones muy aisladas, especies con rangos disyuntivos de distribución), normalmente habrá mayores diferencias entre poblaciones. Pudiendo existir entonces un aislamiento reproductivo.
- La variabilidad genética se manifiesta también en la morfología de los árboles, es decir, en diversas características como tasa de crecimiento, densidad de su madera, fenología, rectitud del fuste, etc. En general, es de esperar que cualquier característica que demuestre variación fenotípica también demostrará variación genotípica.

- Muchas características morfológicas están controladas no por un sólo o dos genes (como en la genética clásica de Mendel), sino por decenas de genes. Como consecuencia, para una determinada característica no son solo tres combinaciones posibles (como es el caso con un solo gen con dos alelos), sino centenares. Además, muchas características de este tipo: **Las características cuantitativas** son afectadas también por el ambiente. Debido a estos dos factores, estas características demuestran una variación continua, en lugar de agruparse en clases discretas.

En general, la variación genética morfológica se expresa utilizando parámetros cuantitativos como las covarianzas, varianzas, componentes de varianzas genotípicas, correlaciones y la heredabilidad, entre otros.

Normalmente, la distribución de la variación genética morfológica entre y dentro de poblaciones es semejante a la distribución de variación genética molecular, es decir hay más variación dentro de las poblaciones que entre ellas.

La variación genética morfológica inter e intrapoblacional se mide utilizando ensayos de campo, en los cuales las descendencias (hijos) de árboles de diferentes poblaciones o de la misma población, se comparan estadísticamente en diseños experimentales en el mismo lugar (ejemplo. Ensayos de procedencias, prueba de progenie, etc.).

Es normal que las descendencias (hijos) de dos árboles diferentes de la misma población difieran hasta en un 100% en su tasa de crecimiento y en otras características, aun cuando crezcan en las mismas condiciones de suelo y clima.

Cuando una especie ocupa un amplio rango geográfico, es normal encontrar variación genética morfológica muy grande

entre poblaciones de diferentes regiones, especialmente si el flujo alélico es inexistente o casi inexistente.

Estas diferencias se deben a los procesos de adaptación al ambiente local, es decir a la **selección natural**. Pueden desarrollarse también en el caso de gradientes altitudinales, tales como ocurren entre la selva baja y la selva alta del Perú.

Hay mucha confusión en cuanto a la terminología empleada para describir la variación genotípica. Es importante distinguir conceptos como procedencia, origen, ecotipo, población, raza y variedad.

La variación genética es la materia prima del mejoramiento genético. Como la variación genética tiene una estructura espacial, el mejoramiento genético funciona aprovechando los diferentes niveles de variación genética, particularmente la variación genética entre y dentro de poblaciones (Cornelius & Ugarte-Guerra, 2010).

La mayoría de las especies forestales comerciales se reproducen tanto por semilla sexual como por medios vegetativos. Con el objeto de acortar el proceso y hacer más ágil la entrega de los productos de los programas de mejoramiento genético forestal, se ha desarrollado intensivamente el sistema de reproducción y multiplicación de los genotipos superiores por vías vegetativas, a través de la macropropagación (rebrotos, estacas, miniestaquillas, injertos, etc) y la micropropagación (cultivo de tejidos, anteras, yemas, embriogénesis somática, etc).

Aunque la plantación comercial de especies forestales puede hacerse por varias formas: por reproducción sexual (utilizando semillas) o por reproducción asexual o vegetativa (a través de estaquillas enraizadas, cultivo de tejidos e injertos), la silvicultura intensiva y de precisión que se impone en el mundo moderno es la basada en la reproducción asexual o vegetativa, por sus ventajas y logros espectaculares obtenidos.

La propagación vegetativa abarca una amplia gama de técnicas que sirven para una multiplicación rápida de genotipos. Ello ha sido útil para especies que producen pocas semillas o semillas recalcitrantes y para multiplicar determinados genotipos en un plazo corto. Aunque se ha utilizado un gran número de especies arbóreas para la investigación sobre la micropropagación en los países en desarrollo, la mayor parte del trabajo registrado (94%) se encuentra todavía en la fase de laboratorio, mientras una proporción relativamente pequeña (5%) ha llegado a la fase de ensayo sobre el terreno. Menos del 1% de las actividades de micropropagación registradas en los países en desarrollo ha alcanzado la fase de la aplicación comercial (FAO, 2010c).

Gran cantidad de aportes sobre adaptación de técnicas de propagación vegetativa se han realizado en las universidades costarricenses (Badilla *et al.*, 2000; Murillo *et al.*, 2003) y principalmente en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en la década de los 90. La mayor parte de esta experiencia se condensa en los trabajos de Mesén *et al.* (1992), Mesén y Trejos (1998), Nuñez (1997), y culmina en 1998 con un manual de "Enraizamiento de estacas Juveniles de especies forestales: uso de propagadores de sub-irrigación" (Mesén, 1998). A partir de la última década, el modelo de mejoramiento genético cooperativo de vinculación universidad - empresa (GENFORES en Costa Rica y Colombia), genera las condiciones para un acelerado desarrollo y evolución de los sistemas de propagación vegetativa forestal, que logran alcanzar escala comercial a un costo cada vez menor (Murillo *et al.*, 2001; Murillo *et al.*, 2003; Murillo & Badilla, 2004; Murillo, 2006; Badilla & Murillo, 2009; Murillo, 2010).

2.-IMPORTANCIA DE LA MULTIPLICACIÓN VEGETATIVA DEL ÁRBOL PLUS

La propagación y multiplicación vegetativa de cualquier árbol plus es importante en los programas de mejoramiento, en razón a que a través de este proceso se logra **capturar el 100% de la constitución genética del árbol seleccionado** (efectos genéticos aditivos y no aditivos). Por tanto, los resultados esperados a la hora de su multiplicación vegetativa en forma masiva (clonación), se espera que repita la superioridad de las características fenotípicas del árbol seleccionado, esto a su vez permite obtener plantaciones de alta calidad y productividad. Mientras que cuando se continúa el mejoramiento genético utilizando la semilla sexual del árbol plus es la madre lo único que conocemos, en razón a que la semilla es originada de polinización abierta (polinización cruzada natural). Cada planta que se obtenga producto de una semilla de ese árbol plus madre, permitirá **capturar solamente un 50%** de sus cualidades, ya que no se conoce al progenitor masculino. Por ello la progenie originada de la semilla sexual de un árbol seleccionado, corresponderá a una familia de hermanos medios que serán de constitución

genética variable, dado que sólo tienen en común a la madre, pero sus progenitores masculinos son genéticamente diferentes. Esto conllevará a que no se repita, o se repita en bajo porcentaje, la superioridad del árbol plus (madre) seleccionado cuando se siembre en campo su progenie (Murillo *et al.* 2003).

Por lo anterior, el proceso de clonación de los árboles plus A seleccionados en un programa de mejoramiento, producirá una población comercial de árboles con mayores ganancias genéticas en las principales características de crecimiento y calidad del fuste en las siguientes generaciones. Esto permitirá aumentar los rendimientos, la productividad y la calidad de la materia prima, en beneficio directo de los productores de madera y la industria, al producir árboles más homogéneos y de menores desperdicios al momento de la cosecha y procesamiento de su madera. Es esta técnica, la que hoy se impone en el mundo en combinación con la silvicultura intensiva y de precisión, lo cual permite que este tipo de programas

contribuya en hacer más sostenible, atractivo y equitativo el negocio forestal en el mundo en el largo plazo. Ello es más importante si tenemos en cuenta que existen diferentes estrategias de clonación de los árboles adultos en la mayoría de las especies forestales que más se plantan para la producción de madera sólida en el mundo.

La reforestación clonal es considerada el complemento ideal de un programa de mejoramiento genético forestal (Zobel y Talbert 1984). La propagación masiva del material seleccionado permite establecer parcelas monoclonales perfectamente idénticas, con un rendimiento superior al que se alcanzaría si se utiliza la semilla (progenie) de los mismos árboles seleccionados. La uniformidad de la plantación forestal implica ya una ganancia en cuanto al manejo (raleos sistemáticos) y aprovechamiento (fustes casi idénticos en dimensiones y rectitud) (Murillo *et al.*, 2003). Sin duda la experiencia clonal más extensa con especies forestales se ha desarrollado en los países asiáticos y en Brasil (Monteuuis *et al.*, 1995; Mascarehas & Muralidharan, 1993; Xavier *et al.*, 2009).

Existen muchos ejemplos para ilustrar el importante aporte en la productividad y competitividad de la propagación y multiplicación vegetativa de los mejores clones en los programas de mejoramiento en el mundo. Por ejemplo, el desarrollo de la silvicultura clonal en zonas tropicales se reporta a escala comercial en plantaciones de Eucalyptus, a partir de los años 70, en proyectos desarrollados en el Congo y en Brazil (Zobel, 1993). Los resultados espectaculares alcanzados por la empresa brasileña Aracruz Forestal, quienes lograron aumentar de un promedio de 33 m³/ha/año a poco más de 70 m³/ha/año, influyeron definitivamente en la concepción de una nueva silvicultura comercial (Zobel *et al.*, 1987). Varias compañías brasileñas y otras compañías asentadas en América Latina, como Cartón de Colombia, logran también ingresar poco después en el selecto grupo de

organizaciones que incorporan los beneficios de la reforestación clonal a escala comercial. Con el apoyo técnico de la Cooperativa de Mejoramiento Genético para especies coníferas de México y Centro América (CAMCORE, con sede en la Universidad Estatal de Carolina del Norte, EUA), un grupo de sus empresas asociadas incorpora también la reforestación clonal en sus programas de mejoramiento genético (CAMCORE, 1999).

Debido al auge que tomó la reforestación clonal, surgieron inquietudes sobre posibles criterios técnicos y regulaciones mínimas tales como, el número mínimo de clones a utilizar en reforestación comercial, el tamaño máximo de los bloques monoclonales, posibilidad de plantar solo los árboles de la cosecha, como manejar problemas fitosanitarios y el posible manejo de programas de conservación genética, entre los más importantes. Varios congresos internacionales sobre propagación vegetativa de especies forestales y sus aplicaciones fueron realizados en diversos países a partir de 1973 (Kleinschmit *et al.*, 1993). Pero fue hasta 1993 que un grupo de expertos logró publicar el primer libro en dos volúmenes especializado en la materia (Clonal Forestry I y II), donde se compila un gran bagaje de experiencia y estado del conocimiento en este campo (editado por Ahuja y Libby, 1993)

Paralelo a los trabajos de mejoramiento genético, en Costa Rica a partir del año 2000, las organizaciones miembro de GENFORES han logrado seleccionar más de 450 árboles plus de teca en las diferentes zonas semilleras del país, de los cuales un 80% están establecidos en sus jardines clonales comerciales. Así también, se ha incursionado en los ensayos de evaluación clonal de teca y en el desarrollo de una silvicultura clonal con la utilización de clones mejorados desde el año 2004, tratando de cubrir las zonas más importantes de reforestación de teca en el país (Murillo *et al.*, 2003). En Costa Rica la compañía Ston Forestal se convierte en la pionera en este campo a mediados de los

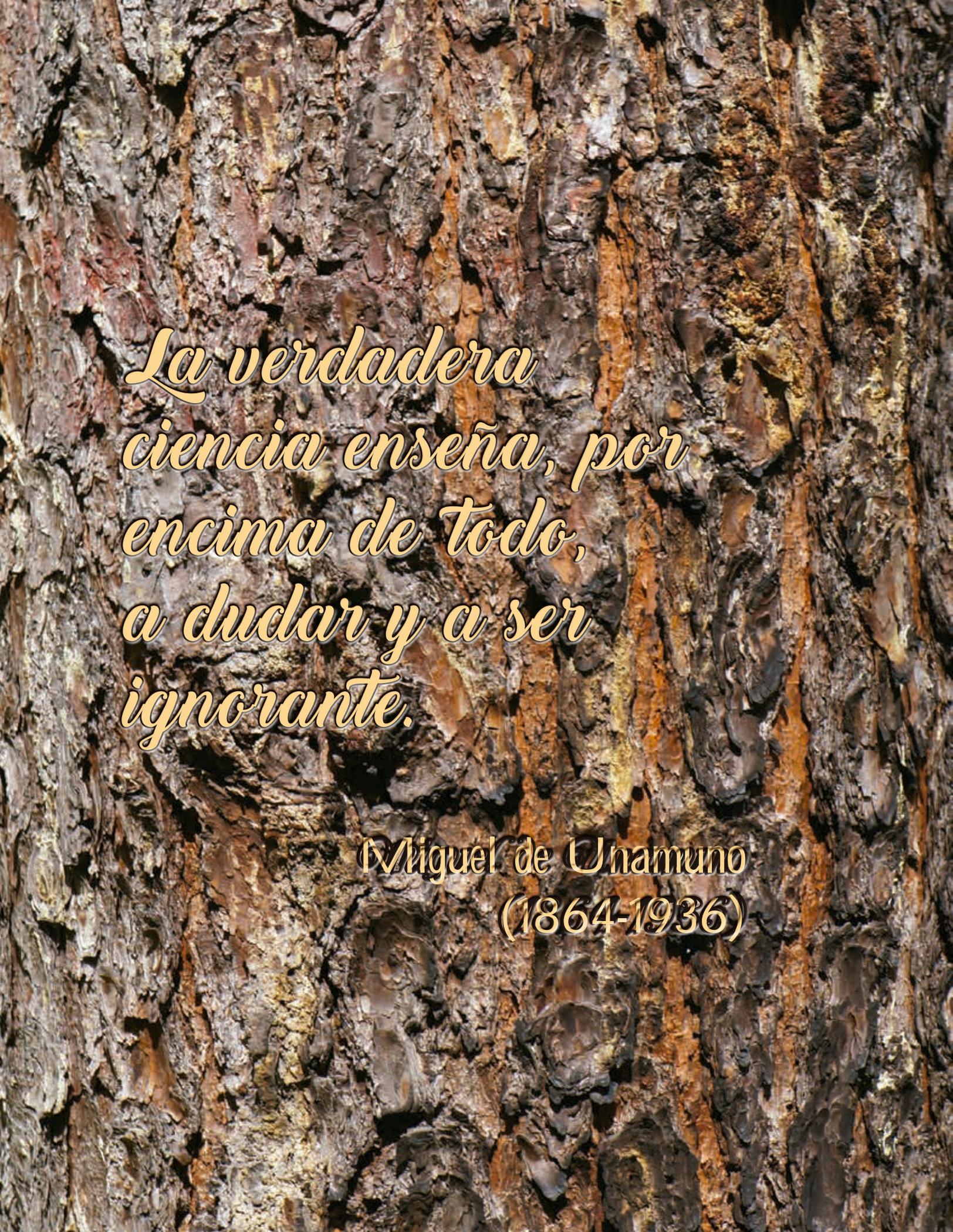
años 90, quienes desarrollan su programa de mejoramiento genético con *Gmelina arborea* en el Pacífico Sur del país (Zeaser, 1996).

El desarrollo de las tecnologías de propagación in vivo han permitido un progreso asombroso en el cultivo de eucaliptos en el mundo (Xavier *et al.*, 2009), donde la productividad avanzó de 200m³ ha⁻¹ en los años 70's, a superar actualmente la barrera de los 400m³ ha⁻¹ a nivel operativo, con resultados de investigación que superan los 500m³ ha⁻¹ en 7 años.

La silvicultura clonal impone un cambio en toda la concepción del modelo de plantación. La plantación se establece en forma de un mosaico de bloques monoclonales, donde cada uno de estos bloques es un solo genotipo replicado miles de veces y tendrá entonces un comportamiento prácticamente idéntico en crecimiento y calidad. Dado que cada individuo ha sido seleccionado y presentará un buen rendimiento comercial, nace la posibilidad de aprovechar mejor el sitio, así como intentar utilizar hasta el producto del primer raleo. Al lograrse una alta homogenización en la plantación, los raleos serán sistemáticos y se convertirán en una tarea mucho más fácil. El plan de aprovechamiento se simplifica ya que los productos a cosechar son todos muy similares. El espaciamiento inicial debe entonces replantarse, ya que, al no existir diferencias entre los árboles de un mismo bloque monoclonal, se puede diseñar un manejo de la densidad inicial orientado exclusivamente a elevar la productividad y calidad de los fustes y a facilitar las labores de aprovechamiento. La tecnología clonal exige sin embargo, una mejor preparación del terreno, ya que el material enraizado es de menor tamaño a lo usualmente utilizado. Además, los clones tienden a ser mucho más sensibles a las condiciones de sitio que el material producido por semilla, por lo que su buen desempeño no necesariamente se mantendrá a lo largo de toda una región geográfica. Por razones de riesgo de una

excesiva reducción de la variabilidad genética, se ha instaurado como norma internacional el uso mínimo de 15 a 20 clones y bloques monoclonales no mayores a 20 ha, en un programa clonal comercial en turnos cortos para producción de papel (Zobel, 1993). Dado que en Costa Rica el proceso forestal se orienta principalmente a la producción de madera sólida, en turnos de 12 a 20 años, es prudente que estos bloques monoclonales no superen las 5 ha.

Por lo anterior, se ha considerado actualmente a la reforestación clonal como parte de un programa de mejoramiento genético y silvicultural, como estrategia de combinación necesaria para alcanzar el éxito reportado en productividad y competitividad forestal de otros países. Para lograr la conjugación de estos factores, se requiere del trabajo serio, continuo y sistemático en el sector.



*La verdadera
ciencia enseña, por
encima de todo,
a dudar y a ser
ignorante.*

Miguel de Unamuno
(1864-1936)

3.-PROCESO DE CAPTURA VEGETATIVA DEL ÁRBOL PLUS

Por lo general, en un programa clonal más del 60% de los clones seleccionados serán rápidamente eliminados debido principalmente a que **a)** no logran alcanzar una tasa comercial de enraizamiento (>70%), **b)** son muy susceptibles al ataque de hongos u otros patógenos, **c)** algunos clones no rebrotan o no se logra ubicarlos de nuevo una vez tumbado el árbol. Posteriormente, más del 50% de los clones que permanecen en el programa son eliminados debido a **d)** que manifiestan un bajo rendimiento durante la evaluación en campo, o también **e)** muestran buenos rendimientos únicamente en condiciones de sitio muy particulares y no se pueden plantar en toda una región. Por estas razones, por lo general se seleccionan y clonan un número alto de individuos al inicio de un programa (1 por ha), siempre y cuando hayan superado todos los criterios propuestos de selección.

Los individuos elegidos se deben identificar con dos números: el primero que corresponderá al número de la finca o lote, y el segundo que será un número consecutivo dentro de esa finca o lote. Ejemplo: árbol **1-18**, que significa **individuo 18 de la finca 1**, A cada árbol seleccionado en las plantaciones, se le marca uno o varios anillos completos con pintura fosforescente en el fuste, arriba del DAP si es posible, de manera que lo haga visible desde todo ángulo. Cada árbol plus debe también ser ubicado en un croquis en un plano de la(s) plantación(es) revisada(s). De ser posible se ubicarán sus coordenadas con ayuda de un GPS. Algunos de los árboles vecinos también deben ser marcados con pintura, Con el fin de facilitar posteriormente la ubicación del tocón del árbol plus, una vez que éste ha sido talado para iniciar su clonación a partir de sus rebrotes. De ser posible se podrá colocar un poste, una bandera o una estaca de más de un metro de alto y que haya sido pintada.

La multiplicación vegetativa de los árboles plus seleccionados en un programa de mejoramiento genético forestal constituye uno de los eslabones más importantes en la reforestación clonal con prácticas de silvicultura intensiva y de precisión. Existen varias técnicas para realizar el proceso de captura vegetativa del árbol plus a clonar, entre ellas tenemos las siguientes:

a) Talar el árbol plus. Con aquellas especies que rebrotan fácilmente, todos los árboles plus pueden ser talados para iniciar su propagación vegetativa. En especies como *Tectona grandis* y *Gmelina arborea* los nuevos rebrotes pueden iniciar su propagación a partir de 2-3 semanas después de cortado el árbol y hasta casi 2 meses en *Hieronyma alchorneoides*. Es recomendable seguir algunas prácticas de manejo del tocón y sus rebrotes para lograr una efectiva captura del árbol plus (Figura 1):

- Identificación en el campo.
- Apertura de luz podando o eliminando árboles vecinos.
- Control de malezas alrededor del tocón.
- Estado nutricional y fitosanitario (muestras foliares). Fertilización foliar alta en nitrógeno para estimular nuevos brotes.
- Dejar al menos un rebrote con hojas después de cada cosecha.



FIGURA 1. PROCESO DE CLONACIÓN DE UN ÁRBOL PLUS, ZONA NORTE DE COSTA RICA

Aun cuando cortar o talar el árbol plus no siempre es la mejor alternativa (ya que se pierde un árbol semillero), es posible también clonarlo a través de la inducción de rebrotes empleando diferentes técnicas, como la realización de heridas en la base del fuste, corte de ramas bajas, descope del árbol o quema controlada de la base del fuste, entre otras. Estas técnicas se explican e ilustran más adelante.

Con el fin de garantizar la identidad del material proveniente de cada clon, las colectas de rebrotes deben realizarse de manera ordenada, sistemática y en grupos de 20-30 clones cada vez. Debe cortarse con una podadora de mano únicamente los rebrotes vigorosos y sanos. Los rebrotes se cortan de 20 cm de largo medidos desde el ápice. Es conveniente no cosechar todos los rebrotes del tocón para no ocasionarle un severo estrés o su muerte. Se puede dejar una porción de tallo que contenga hojas o dejar un brote completo en cada cosecha. Los rebrotes cosechados de cada clon se envuelven en papel toalla o papel periódico húmedo, se amarran con una liga de hule cuidando de incluir una paleta de madera o plástico que identifique el número del clon. El material es depositado cuidadosamente en una hielera (caja de icopor, cartón o plástica con suficiente humedad) para mantenerlo fresco por unas horas, mientras se llega al invernadero y se inicie su preparación para la propagación.

Si se desea prolongar la vida y vigor de los tocones por más de 8 meses, es necesario eliminar algunos de los árboles a su alrededor, con el fin de aumentar la entrada de luz. Debe también mantenerse el tocón libre de malezas y especies trepadoras para que los rebrotes puedan desarrollarse. También puede aplicarse un abono foliar rico en nitrógeno una semana después de cada cosecha de rebrotes. Una posibilidad es la de permitir que uno de los rebrotes continúe creciendo, para que se mantenga vivo el tocón y para que eventualmente participe como árbol semillero.



FIGURA 2. REBROTES INDUCIDOS POR HERIDAS EN EL FUSTE EN CEBO (*VOCHYSIA GUATEMALENSIS*, IZQUIERDA) Y BOTARRAMA (*VOCHYSIA FERRUGINEA*, DERECHA).

b) Inducción de rebrotes. En especies que tengan dificultad para producir brotes de tocón (*Alnus acuminata*, *Eucalyptus deglupta*, *Acacia mangium* y casi todas las coníferas), o cuando no sea posible talar al árbol plus, se puede intentar la inducción de brotes en el fuste provocados por heridas (Figura 2). Esta técnica se ha empleado sin embargo, con poco éxito en Costa Rica, ya que el brote producido ha sido excesivamente suculento y difícil de enraizar.

c) Corte y siembra de ramas bajas del árbol. Otra opción de propagación sin cortar el árbol plus, que se ha utilizado con teca de manera experimental, es la de cortar ramas bajas con buena actividad de crecimiento, que presenten un comportamiento en reiteración con el eje dominante (Figura 3). Estas ramas se pueden cortar y preparar en estacones de 50 a 75 cm. de largo, que son sembradas en camas de arena con buenas condiciones de humedad dentro de un invernadero. Estos estacones producen **brotes** que pueden servir como material vegetativo de partida para poder iniciar con la clonación y multiplicación del árbol. Es importante tener presente que éstas ramas deben provenir en lo posible, de la parte más baja del fuste para obtener un material de comportamiento fisiológicamente juvenil. Sin embargo, debe tenerse siempre presente que los propágulos obtenidos con esta técnica, deben mostrar un crecimiento rápido y ortotrópico (crecimiento en sentido vertical). Esta técnica tiene sin embargo como limitante, que el proceso de clonación de cada árbol plus es relativamente lento y los primeros brotes deben aún superar un proceso de rejuvenecimiento. Con esta técnica se requiere de al menos un año de trabajo hasta lograr tener un pequeño lote de rametos por clon en un minijardín clonal (Figura 3).



FIGURA 3. CLONACIÓN DE ÁRBOLES POR MEDIO DE RAMAS BAJAS.

d) Descope del árbol plus. En los últimos años se ha venido desarrollando con éxito en Córdoba, Colombia una nueva opción de clonación de especies de difícil propagación, como la *Acacia mangium*. Consiste en descopear el árbol y esperar unos 2 meses para capturar los nuevos brotes que aparecen en lo alto de la copa (Figura 4). La experiencia con esta especie ha mostrado que el brote nuevo que surge en la copa, presenta características juveniles, que permiten su propagación e incorporación en un programa clonal.

Una ventaja de este sistema de descope, es que no se requiere tumbar al árbol plus y permite continuar visitándolo cada vez que sea necesario. El descope se realiza en la parte alta del árbol, de modo que no interfiera con la zona de producción comercial. Esta modalidad implica un alto riesgo para los escaladores, ya que la realización de la labor de descope puede resultar peligrosa.



FIGURA 4. CLONACIÓN DE ÁRBOLES POR MEDIO DE LA TÉCNICA DEL DESCOPE.

e) Quema controlada de la base del árbol. Otra técnica a nivel experimental que en Brasil están probando es la quema controlada de la base del fuste, como una técnica de inducción de rebrotes en especies muy difíciles de clonar el árbol adulto. Sin embargo, esta técnica puede conllevar muchos riesgos de incendios en plantaciones forestales, si no se toman las medidas preventivas del caso (Figura 5).

Para la ejecución de esta técnica se usan hojas y ramas secas de los árboles, las cuales son amontonadas en la base del tronco y protegidas por una estructura metálica formando dos semicírculos yuxtapuestos y unidos, con una apertura lateral como un horno por donde se enciende el fuego. El tratamiento dura entre 10 y 20 minutos a una temperatura de 70°C. Después de cerca de 20 días de aplicado el tratamiento, brotes epicórmicos empiezan a aparecer en la base del árbol y a los 45-50 días son cosechados para enraizamiento.

Los resultados de este método se basan en el principio de degradación de la auxina endógena por el calor, lo cual altera la relación auxina/citocinina promoviendo la emisión de nuevos brotes en la base del árbol justo debajo del área afectada por el fuego (Alfenas *et al.*, 2004).

Es importante recordar que esta técnica es peligrosa, ya que, en caso de un mal uso, puede ocasionar la muerte del árbol o provocar incendios forestales, por lo tanto, no es muy frecuentemente utilizada en la clonación de árboles superiores. Al igual que otras técnicas los resultados también dependen de la especie, época del año, condiciones fisiológicas y ambientales.



FIGURA 5. USO DEL FUEGO PARA INDUCCIÓN DE REBROTES EN ÁRBOLES (ALFENAS ET AL., 2004).



*Donde hay
educación no hay
distinción de clases.*

Confucio (551 A.C. - 478 A.C.)

4.-IMPORTANCIA Y EVOLUCIÓN DEL JARDÍN CLONAL

El jardín clonal o área de multiplicación es uno de los componentes principales de todo el sistema de reforestación clonal. Este debe verse como un cultivo que será manejado en un sistema de producción muy intensivo, que requiere por tanto de un buen manejo del estado nutricional de las plantas. El sitio donde se establece el jardín clonal debe ser preferiblemente de alta productividad agrícola, sin problemas de drenaje, fácil acceso, disponibilidad de agua y electricidad.

En el jardín clonal es donde se tendrá la colección completa de todos los árboles plus seleccionados originalmente. Cada árbol plus ha sido entonces propagado a partir de sus brotes en el tocón, o a partir de otras partes vegetativas. Todas y cada una de las estaquillas que se logren reproducir de un mismo árbol plus son copias genéticamente idénticas y se les denomina como rametos. De aquí en adelante se les identifica con el código del árbol plus. El árbol *plus* junto con todos los posibles rametos o copias idénticas que se obtengan de él constituyen el clon. De aquí la importancia de mantener rigurosamente la identidad de todo el material que se propaga.

Para lograr producir plantas en la cantidad y calidad requeridas por el programa de plantas comerciales, es necesario desarrollar una colección con todos los árboles plus seleccionados y capturados en el campo. Estas colecciones se establecen en jardines clonales en ambientes protegidos, con el fin de lograr su producción a la escala deseada, en cualquier época del año, al menor costo posible. Para lograr mayor calidad, eficiencia y eficacia en los procesos de producción de clones, los jardines clonales han evolucionado, iniciándose con los minijardines clonales al aire libre directamente en el suelo; luego aparecieron los jardines clonales establecidos en potes o bolsas con suelo mejorado y uso de sombra; después a través de un gran salto tecnológico aparecieron las colecciones clonales dentro de un ambiente protegido, con diseños desde rústicos a sofisticados; las colecciones clonales evolucionaron de jardín clonal a minijardín clonal con sistemas hidropónicos y últimamente se ha propuesto la tecnología del minijardín clonal virtual (Badilla & Murillo, 2009).

A continuación, se describen e ilustran las características específicas más importantes y la evolución de los jardines clonales.

En los inicios de los programas de producción clonal forestal, se establecieron los primeros minijardines clonales al aire libre. Esta estrategia, a pesar de tener muy bajo costo de establecimiento y manejo, requería de grandes extensiones de terreno y no lograba controlar los efectos del clima y del suelo en el comportamiento de los materiales. Las plantas se plantaban a 40 x 40 cm, que resultaba en 6.25 plantas/m². Aparecieron entonces los jardines clonales establecidos en potes con suelo mejorado y uso de sombra, que lograron aumentar la producción y control de la producción (Figura 6). Pero fue posteriormente, cuando se introdujeron las colecciones clonales dentro de un ambiente protegido, que se logró un gran salto en el control de la producción, aumento de la productividad del sistema de clonación, disminución de costos de producción por planta y una alta eficiencia en general del sistema.



FIGURA 6. PRIMEROS TIPOS DE JARDINES CLONALES ESTABLECIDOS EN EL SUELO AL AIRE LIBRE (IZQUIERDA) Y EN POTES CON SUELO MEJORADO (DERECHA).

Los primeros diseños de ambiente protegidos fueron rudimentarios; poco a poco fueron incorporando las nuevas tecnologías y experiencias utilizadas con gran éxito en el campo agrícola (Figura 7).



FIGURA 7. UTILIZACIÓN DE AMBIENTES PROTEGIDOS PARA LA PRODUCCIÓN CLONAL, RUDIMENTARIO (IZQUIERDA) Y NUEVA TECNOLOGÍA (DERECHA).

Las colecciones clonales evolucionaron de jardín clonal a minijardín clonal. El espaciamiento utilizado disminuyó hasta 10 x 10 cm, con una cantidad de 100 plantas/m².

De cada planta establecida en el jardín clonal, se obtendrán brotes terminales periódicamente, por lo general, cada 1 a 2 semanas. Estos brotes tiernos, succulentos, son el material base de propagación vegetativa (Figura 8). Toda una nueva silvicultura ha nacido relacionada con el manejo nutricional, riego, prevención y control fitosanitario, manejo y mantenimiento de la infraestructura de ambiente protegido. Nuevo conocimiento ha sido necesario, especialmente en el campo de la fisiología del comportamiento de estas miniplantas y su fenómeno de enraizamiento.

El sistema de producción clonal en ambiente protegido se compone de tres grandes espacios:

- a) Minijardín clonal;
- b) Área de Enraizamiento
- c) Área de aclimatación y despacho de plantas. El espacio del minijardín clonal es donde se establece la colección genética del programa de mejoramiento genético. Puede decirse que es la sección más valiosa de todo el sistema clonal.



FIGURA 8. COSECHA DE BROTES TERMINALES EN MINIJARDINES CLONALES DENTRO DE UN AMBIENTE PROTEGIDO.

Por lo general se subdivide el espacio del minijardín clonal en dos secciones: Colección Clonal y Producción Comercial (Figura 9). Estas secciones es conveniente que se ubiquen en espacios o compartimentos separados, por razones de seguridad y mejor manejo de las plantas. La colección clonal contiene todos los árboles plus del programa de mejoramiento, mientras que la sección de producción comercial, contiene exclusivamente los mejores 15 a 20 clones del programa (población élite).



FIGURA 9. SECCIÓN PARA LA COLECCIÓN CLONAL (IZQUIERDA) Y SECCIÓN DE PRODUCCIÓN COMERCIAL (DERECHA), CON LOS MEJORES 15 A 20 CLONES DEL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO (SUBPOBLACIÓN ÉLITE) DE LA ORGANIZACIÓN.

5.-ESTABLECIMIENTO Y MANEJO DEL JARDÍN CLONAL

El establecimiento y el manejo del jardín clonal constituye el puente que permite multiplicar con calidad los productos del mejoramiento genético (árboles plús y clones) para llevarlos a evaluación en ensayos genéticos (progenies, procedencias, clones, etc) y/o plantación comercial. A continuación, se presentan e ilustran las recomendaciones específicas más importantes sobre la preparación, tamaño y manejo de los diferentes sistemas de jardines clonales.

PREPARACIÓN Y MANEJO DEL TERRENO PARA EL JARDÍN CLONAL AL AIRE LIBRE

El terreno debe ser arado y rastreado (preferiblemente 2 veces) unos 2 meses previo al inicio de la siembra del material enraizado. En caso de existir alguna pendiente debe incluirse la abertura de desagües o salidas del agua. Si se tiene algún problema de drenaje, el terreno deberá ser subsolado a unos 50-60 cm de profundidad. Para mejorar las características físicas y propiedades químicas del suelo, se puede incluir la aplicación de abono orgánico y CaCO_3 (cal), que puede ser incluido durante el trabajo de rastreado del terreno.

Problemas de suelos muy ácidos deben ser corregidos con un encalado (carbonato de calcio) con base en la siguiente fórmula:

Toneladas de carbonato de calcio/ha = $[(1.8 * \% \text{ saturación Al}) - 25] * \text{CICE} / 100$

Donde % saturación Al es el porcentaje de saturación de aluminio y CICE es la capacidad de intercambio catiónico obtenidos en el análisis de suelos.

La cal debe ser aplicada de forma superficial y con una distribución homogénea en el campo. Debido a que la cal requiere de humedad para reaccionar, el momento apropiado para aplicarla es en época cercana al inicio de las lluvias. Si la acidez del suelo es muy alta, el encalado deberá repetirse al menos 2 veces al año y procurando realizarlo al menos 1 mes antes de aplicar el abono orgánico. El jardín clonal deberá ser fertilizado en forma abundante con abono orgánico granulado unas 2 veces al año, acompañado de una fertilización foliar alta de nitrógeno 1 semana después de la cosecha mensual.

En el mercado es posible también conseguir una gama de productos orgánicos alternativos a los fertilizantes sintéticos. Algunos de estos productos son el Humate GR y el lornbricompost (125 sacos a \$5.91/saco). Estos productos, al igual que el abono orgánico, pueden ser aplicados unas dos veces al año.

El uso de herbicidas no es recomendable ya que el jardín clonal se irá estableciendo lentamente y su mayor parte no estará ocupada sino hasta unos 10-12 meses de iniciado el programa.

El uso de carbón de origen vegetal se ha utilizado con éxito en minijardines clonales con especies forestales (Chacón & Murillo, 2005). Como fuente de carbón se puede utilizar la cascarilla de arroz calcinada. Entre sus propiedades principales figura la capacidad de absorción de tóxicos existente en el sustrato, mejoría en retención de humedad en sustratos de arena, entre otras funciones.

TAMAÑO DEL JARDÍN CLONAL

El tamaño del jardín clonal depende de:

- a) Del área anual y densidad de plantación
- b) Número de meses disponibles de plantación al año
- c) Tasa de mortalidad y de control de calidad durante el proceso de producción de estaquillas.

En el jardín clonal estarán presentes todos y cada uno de los árboles plus seleccionados (clones). Para cada clon se establecerá una parcela, que deberá estar claramente identificada y separada de los demás clones. Sin embargo, debido a que la mayoría de los clones no presentan una tasa de enraizamiento comercial (>70%), deberá entonces definirse dos grupos de clones

desde el principio: i) población de clones comerciales y ii) población de clones del programa de mejoramiento genético. Los 15-20 clones con la mayor tasa de enraizamiento constituirán la población de clones comerciales, de manera provisional hasta tanto los ensayos genéticos indiquen otra cosa. Debe recordarse que los 15-20 clones de la población comercial constituyen la base genética (diversidad) mínima que debe ser plantada en el campo. Todos los demás clones, incluyendo los comerciales, conformarán la población de clones de mejoramiento, cuyas parcelas serán de menor tamaño y se utilizarán exclusivamente para el establecimiento de los ensayos de evaluación clonal (aproximadamente 50 rametos/clon), como se describe más adelante (Figura 5).

Si por ejemplo una organización o empresa requiere plantar 50 ha/mes durante 4 meses y si se tiene en el programa 20 clones comerciales en producción, se debe planificar plantar al menos 2.5 ha/clon/mes. Esto implica que cada parcela clonal deberá proporcionar al menos 2,750 plántulas efectivas/mes. Para alcanzar esta meta de producción se requiere contar con alrededor de 700 rametos activos/clon. Recuérdese que de cada rameto se obtendrá en promedio 4 brotes por mes, que equivalen a 2.8 plántulas útiles/rameto/mes. Esto significa que se necesitarán 26 x 27 rametos (700 rametos/clon) que sembrados a cada 40 cm, conforman entonces una parcela clonal comercial de 10.4m x 10.8m = 112 m²/clon en el jardín de multiplicación. Sin embargo, por razones de seguridad, conviene planificar un 20% adicional de rametos, ya que es común que algunos de ellos presenten problemas fitosanitarios o de baja producción de brotes en determinadas épocas del año. Esto significa que se necesitarán 700 rametos*1.2 = 840 rametos/clon comercial. Cuya superficie será entonces de 29 x 29 rametos, que equivale a 11.6m x 11.6m, para una superficie total por clon comercial de 135 m². Esto implica un área total de producción con 20 clones comerciales*135 m² = 2700 m² para todo el jardín clonal comercial. A esta área

debe agregársele espacio para calles y entrecalles, que se puede estimar en un 50% adicional de área, lo cual significa que un jardín clonal para tal demanda, deberá contar con al menos 0.4 ha en producción. Esta estimación de la superficie del jardín clonal comercial puede también obtenerse mediante la siguiente fórmula:

$$\text{No. de rametos/clon (NRC)} = \frac{\left[\left(\frac{\text{No. has plantar}}{\text{mes}} \right) \right] * \left(\frac{\text{árboles}}{\text{ha}} \right) * \left(\text{rametos de seguridad} \right)}{\left[\left(\frac{\text{No. cosecha}}{\text{mes}} \right) * \left(\frac{\text{No. brotes rameto}}{\text{cosecha}} \right) * \left(\text{tasa enraizamiento} \right) \right]}$$

Para el ejemplo desarrollado sería:

$$\text{NRC} = \frac{\left[\left(\frac{50 \text{ ha}}{\text{mes}} \right) \right] * (1.111) * (1.2)}{\left[\left(\frac{2 \text{ cosecha}}{\text{mes}} \right) * \left(\frac{2 \text{ brotes rameto}}{\text{cosecha}} \right) * (0.7) \right]}$$

La superficie por parcela clonal se obtiene entonces como sigue:

√1190 rametos = 34.5 que se puede redondear a 34x35 rametos = 1,190 rametos/clon, que equivale a (34*0.4m) x (35*0.4m) = 13.6m x 14m (190m²) de cada parcela clonal comercial.

Mientras que para el archivo clonal se requerirán 50 rametos/clon = 7x7 rametos sembrados a 40 cm, para un total de 2.8m x 2.8 m = 8 m²/clon. Si el programa tiene unos 200 clones en evaluación, esto implicará un área total para el archivo clonal de 1,600 m² + 800 m² (50%) de calles y entrecalles = 2,500 m².

TAMAÑO DEL INVERNADERO

El tamaño del invernadero estará en función de: **a)** tasa de enraizamiento y sobrevivencia postenraizamiento de las estacas, **b)** sistema de enraizamiento en bandeja, en pellet, en bolsa, etc.), **c)** duración de la especie en toda su fase de enraizamiento y aclimatación en el invernadero y **d)** de la duración del período de plantación o demanda mensual de material. Para el ejemplo que se utilizó en la estimación del tamaño del jardín clonal, se tiene una demanda de material para plantar 50 ha/mes. Esto implica una producción no inferior a las 56,000 plántulas efectivas/mes. Si se está clonando una especie de crecimiento medio como *Tectona*, *Gmelina* o *Hieronyma*, entonces se podrá producir una cosecha de plántulas tres veces por mes (cada 10 días) en el invernadero. Si la tasa de enraizamiento promedio es de un 70%, el invernadero deberá albergar 80,000 estacas simultáneamente para lograr obtener las 56,000 plántulas efectivas/mes. En la (Tabla 1) se presentan diferentes tamaños del invernadero en función del sistema de producción, tasa de enraizamiento y de la demanda de material enraizado por mes.

TABLA 1. TAMAÑO DEL INVERNADERO EN FUNCIÓN DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN, DE LA TASA DE ENRAIZAMIENTO Y DE LA DEMANDA DE MATERIAL ENRAIZADO POR MES

Sistema de enraizamiento	Cantidad de estacas / m ² de invernadero ¹	Cantidad de estacas efectivas/m ² de invernadero según tasa de enraizamiento			Tamaño del invernadero (m ²) según tasa de plantación mensual y tasa de enraizamiento ²			
		60%	70%	80%	50 (ha)		100 (ha)	
					60%	80%	60%	80%
Pellet de 50 mm	143	85.8	100.1	114.4	648	486	1295	971
Pellet 42 mm	210	126.0	147.0	168.0	440	330	882	661
Pellet 36 mm	288	173.0	202.0	230.0	321	240	642	483
Pellet de 30 mm	418	250.8	292.6	334.4	221	166	443	332
Bolsa plástico de 80 mm	138	82.8	966	110.4	671	503	1342	1006
Bandeja plástica de 98 unidades	294	176	205	235	315	236	632	473

1. Incluye 48% de pasillo y 95% de ocupación dentro de la cama de producción.

2. Para un distanciamiento de siembra de 3x3m se calcula: (No. árboles/ha*No.ha)/(No. estacas efectivas/m²).

MANEJO DEL JARDÍN CLONAL

Todo jardín clonal tiene tres fases:

- i)** Una fase de producción,
- ii)** Una fase de mantenimiento
- iii)** Una fase de recuperación o renovación de las plantas.

La fase de producción inicia varios meses antes de la estación lluviosa, mientras que la fase de mantenimiento y recuperación al finalizar el periodo lluvioso. Durante la fase de producción es conveniente revisar el estado fitosanitario del jardín clonal. Los rametos enfermos deben ser separados rápidamente. Las hojas basales (viejas) van disminuyendo su capacidad fotosintética y deben ser eliminadas una vez que haya suficientes hojas nuevas.

Uno de los aspectos principales es la nutrición del jardín clonal. El sistema de producción de brotes durante la fase de producción, requiere que cada 8-10 días se proceda a cosechar nuevos brotes para su enraizamiento. Esto implica que este cultivo debe ser fertilizado frecuentemente con productos foliares como los orgánicos: ACRI-GRO y CARBO-VIT (1 litro/ estañón), así como CROP+ y NPK o CITOZYME (1/2 litro/estañón), que se pueden conseguir en el mercado. La fertilización foliar debe realizarse una semana después de cada cosecha con alguno de los productos mencionados. La aplicación de encalado y abono orgánico al terreno, son prácticas recomendadas al menos cada seis meses o durante el proceso de renovación anual del minijardín clonal.

La aplicación de los fungicidas orgánicos como el KILOL y el EVERGREEN, así como el BENLATE y el AGRIMICÍN, son recomendados cada 2-3 semanas de manera preventiva. En caso de aparición de síntomas de presencia de hongos, se deberá eliminar periódicamente todo el material enfermo del jardín y aplicar estos mismos productos cada 8-10 días.

Un sistema de riego es recomendable para suplir de agua durante aquellos días de alta insolación o fuertes vientos. Además, durante la época seca es imprescindible contar con un buen sistema de riego, ya que puede inducir la aparición de un estrés severo en todo el material.

En caso de ataque de plagas (áfidos por ejemplo), existe en el mercado nacional un producto EVERGREEN basado en ajo, que actúa como repelente natural de insectos. Este tipo de productos pueden aplicarse siguiendo las dosis especificadas en el mismo, en caso de sospecha de presencia de alguna otra plaga conocida.

El control de malezas es uno de los aspectos de mayor importancia. Cada 1-2 meses deberá realizarse una deshierba manual o con motoguadaña de todo el jardín clonal. Herbicidas como el Round up pueden ser también aplicados para mantener bajo control las malezas, tanto en las parcelas clonales como en los pasillos.

Por lo general, en los jardines clonales se ha alcanzado una mayor producción de brotes en rametos de tallo corto (15-20 cm), ya que se obtienen brotes más suculentos, que son los que enraízan más rápido y mejor.

Durante la fase de mantenimiento y renovación del jardín clonal, se debe dejar “descansar” las plantas. Entre las labores básicas de mantenimiento están el control de malezas, eliminación de rametos enfermos, encalado y fertilización, entre otras. En algunos jardines clonales se acostumbra dejar crecer los brotes con el fin de darle vigor a la planta. Esta práctica debe ser revisada continuamente, ya que puede producir tallos excesivamente gruesos.

SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CLONES EN POTES

Cuando se tienen problemas severos con la fertilidad natural del suelo o con patógenos en el sitio disponible para el establecimiento del jardín clonal, es posible desarrollar los clones en potes plásticos de jardinería (de unos 20 cm de diámetro por unos 20 cm de alto). Estos potes contienen como sustrato tierra + materia orgánica (25 a 30%) y granza seca de arroz (5%). Se estima que en este sistema un rameto podrá soportar unos 3 años útiles antes de ser renovado. En las primeras experiencias hasta ahora desarrolladas se ha visto un mejor desarrollo inicial del rameto y una pronta producción de brotes. Este sistema permite también un mejor manejo de problemas con hormigas y otros problemas fitosanitarios, ya que es más fácil la manipulación de los rametos de un lugar a otro, así como de aislar a un clon enfermo (ver Figura 5).

SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE CLONES EN SISTEMAS HIDROPÓNICOS

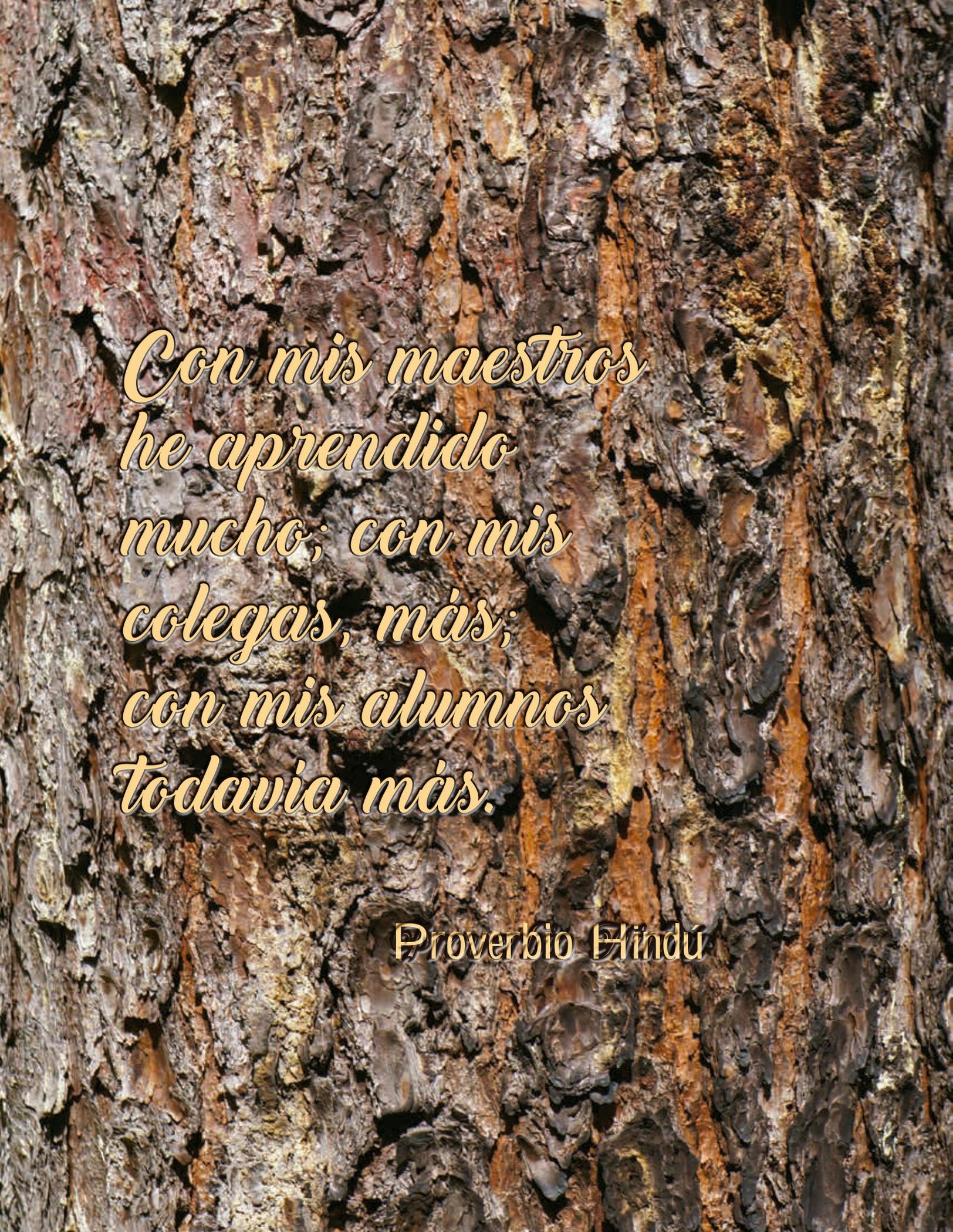
La utilización de sistemas hidropónicos para la producción de material vegetativo forestal se experimentó a inicios de los años 2,000 en Costa Rica y Colombia, pero ya se tienen resultados de gran importancia en universidades y empresas privadas a escala comercial. Inicialmente, la experiencia con sistemas hidropónicos ha sido exclusivamente con cultivos anuales de corta duración (hortalizas, flores y ornamentales) y no con una planta leñosa, que deberá mantenerse viva durante un periodo mayor de producción. Las primeras investigaciones en los invernaderos del instituto Tecnológico de Costa Rica, muestran que el uso de canoas o canaletas de 6 u 8 metros de largo, con sustratos de grava y con carbón vegetal (50:50) han dado resultados prometedores. El sistema se alimenta en forma continua con una solución completa de elementos mayores y menores diluidos en agua y almacenada en un estanón enterrado a ras del suelo. La solución es impulsada a través de la tubería con una bomba de achique de bajo poder (0.15 caballos de fuerza), que alimenta cada una de las canoas del sistema. Las canoas tienen una pendiente de un 5% que permite el flujo de la solución y su retorno al estanón de almacenamiento. El diseño del sistema permite hasta 8 canoas de producción en un plano inclinado, con una capacidad de 20 rametos/m² (en contraste, el jardín clonal en potes tiene una capacidad de 11 rametos/m² y en el suelo de 6.2 rametos/m²).

El jardín clonal en sistema hidropónico es prometedor para organizaciones con problemas de espacio y calidad de suelos. Sin embargo, su alto costo inicial y la necesidad de mayor investigación no permiten aún su utilización a escala comercial (Figura 10).



FIGURA 10. JARDÍN CLONAL EN SISTEMA HIDROPÓNICO.

En Colombia a través de la realización del proyecto: “Selección de arboles plus y creación de fuentes semilleras de teca (*Tectona grandis*), melina (*Gmelina arborea roxb*) y acacia (*Acacia Mangium Willd*) en el departamento de Córdoba”, se han seleccionado en campo durante los años 2008 a 2010, un total de 89 árboles superiores de acacia, 49 de melina y 46 de teca, en 20 plantaciones comerciales aproximadamente. El proceso de captura vegetativa de los árboles plus, mediante el corte de ramas bajas, jóvenes y de 50 centímetros de largo de los árboles, sembradas en camas de arena con buenas condiciones de humedad dentro de un invernadero; permitió producir brotes que se utilizaron como material vegetativo de partida para poder iniciar la clonación y multiplicación en jardín clonal de 40 árboles, con los cuales se han sembrado dos ensayos de evaluación de clones, uno de melina de 15 clones y otro de teca de 25 clones (Espitia, 2010).



*Con mis maestros
he aprendido
mucho; con mis
colegas, más;
con mis alumnos
todavía más.*

Proverbio Hindú

BIBLIOGRAFÍA

- AHUJA, M.R. & LIBBY, W.J. 1993. Clonal Forestry II, Conservation and Application. Springer-Verlag, Berlín. 240 pp.
- ALFENAS A.C., ZAUZA E.A.V., MAFIA R.G., ASSIS T.F. 2004. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 442 p.
- ARAMENDIZ, H.; ESPITIA, M.; CARDONA, C. 2010. Mejoramiento genético de plantas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba. Impreso universitario. 327p.
- BADILLA, Y., RODRÍGUEZ, L., MURILLO, O. Y OBANDO, G. 2000. Avances en la clonación de cebo, botarrama, pilón y almendro. Programa de mejoramiento y conservación genética de especies forestales. Reporte de Investigación No. 1. 11 p.
- BADILLA Y. y MURILLO, O. 2009. Evolución de los sistemas de propagación clonal in vivo de teca en Costa Rica. En: I Congreso Internacional del Cultivo de teca. Universidad de Quevedo, Ecuador. 16-17 de setiembre, 2009.
- CAMCORE. 1999. 1999 Annual Report. North Carolina State University. College of Forest Resources. Raleigh, North Carolina. EUA. 23p.
- Chacón, P; Murillo, O. 2005. Análisis comparativo de la producción de minijardines clonales hidropónicos y jardines clonales en tierra de melina (*Gmelina arborea Roxb.*). Kurú: Revista Forestal 2(6):7 p. http://www.tec.cr/sitios/Docencia/forestal/Revista_Kuru/anteriores (Consultado: mayo/17/2010).
- CORNELIUS, J.; UGARTE-GUERRA, L. 2010. Introducción a la Genética y domesticación forestal para la Agroforestería y Silvicultura. Notas de clase. Lima, Perú. Centro mundial para la agroforestería (ICRAF). 124 p.
- ESPITIA, M. 2010. Selección de arboles plus y creación de fuentes semilleras de teca (*Tectona grandis*), melina (*Gmelina arborea roxb*) y acacia (*Acacia mangium willd*) en el departamento de Córdoba - Sexto Informe de Avance. Documento impreso. Montería, dic/15/2010. 116p.
- FAO, 2010. Síntesis: Estado actual y opciones para las biotecnologías forestales en los países en desarrollo. Conferencia sobre las Biotecnologías Agrícolas en los Países en Desarrollo (ABDC-10). Guadalajara (México), 1 - 4 de marzo de 2010. <http://www.fao.org/biotech/abdc/backdocs/es/> (Consultado: Mayo/27/2010)

- KLEINSCHMIT, J., KHURANA, D.K., GERHOLD, H.D. & LIBBY, W.J. 1993. Past, present and anticipated applications of clonal forestry. En: Ahuja & Libby (eds). Clonal Forestry II, Conservation and Application. Springer-Verlag Berlín: 9-41p.
- MASCARENHAS, A.F; MURALIDHARAN, E.M. 1993. Clonal forestry with tropical hardwoods. Capítulo 10. En: Ahuja & Libby (eds.) Clonal Forestry II. Conservation and Application. Springer-Verlag, Berlín, Alemania: 169-176.
- MESÉN, F. 1998. Enraizamiento de estacas juveniles de especies forestales: uso de propagadores de sub-irrigación. CATIE. PROSEFOR. Serie Técnica. Manual Técnico No. 30. Turrialba, Costa Rica. 36 p.
- MESÉN, F. Y TREJOS, E. 1998. Propagación vegetativa del San Juan (*Vochysia guatemalensis* Donn. Smith) mediante enraizamiento de estacas juveniles. Revista Forestal Centroamericana 21: 19-24.
- MESÉN, F., LEAKEY, R.R.B. Y NEWTON, A.C. 1992. Hacia el desarrollo de técnicas de silvicultura clonal para el pequeño finquero. El Chasquí (CATIE, Costa Rica) 28: 6-18.
- MONTEUUIS, O; VALLAURI, D; POUPARD, C; HAZARD, L; YUSOF, Y; LATIP., A.W; GARCÍA, C; CHAUVIÈRE, M. 1995. Propagation clonale de teck matures par bouturage horticole. Bois et Foret des Tropiques 243: 25-39
- MURILLO, O., BADILLA, Y. & OBANDO, G. 2001. ¿Semillas versus propagación vegetativa: hacia dónde vamos?. Revista Forestal Latinoamericana 16 (30): 67-77.
- MURILLO, O.; ROJAS, J. L. Y BADILLA, Y. 2003. 2da edición. Reforestación Clonal. Taller de Publicaciones. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 36 p.
- MURILLO, O y BADILLA, Y. 2004. Breeding teak in Costa Rica. En: IUFRO Meeting. Forest Genetics and Genomics. 1 – 5 de noviembre. Charleston, South Carolina, USA. www.ncsu.edu/feop/iufro_genetics2004/proceedings.pdf
- MURILLO, O. 2006. Producción de semilla mejorada a gran escala en Costa Rica a través de GENFORES: modelo de vinculación Academia – Empresa. En: I Curso Internacional sobre producción y conservación de semillas forestales. 21-23 Octubre 2006. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- MURILLO, O. 2010. Retos para el desarrollo de plantaciones forestales en Costa Rica. Ponencia magistral. En: IX Congreso Nacional Agronómico y Forestal. San José, Costa Rica. 4-6 agosto 2010.
- NÚÑEZ, Y. 1997. Propagación vegetativa del cristóbal (*Platymiscium pinnatum Benth*), pilón (*Hieronyma alchorneoides Allemo*) y surá (*Terminalia oblonga Ruiz&Pavon*) mediante el enraizamiento de estacas juveniles. Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 150 p.

- XAVIER, ALOISIO; WENDLING, IVAR; DA SILVA, ROGÉRIO. 2009. *Silvicultura Clonal. Principios e Técnicas*. Editorial Universidad Federal de Vicosa. Vicosa, Minas Gerais, Brasil. 272 p.
- ZEASER, D. 1996. Comportamiento temprano de familias de progenies de Melina producido por polinización abierta entre clones de árboles *plus* en Huerto Semillero. En: III Taller Nacional Forestal y Agroforestal, 14-16 noviembre, 1995. Hacienda La Pacífica, Cañas, Guanacaste. 7p.
- ZOBEL, B Y TALBERT, J. 1984. *Applied Forest Tree Improvement*. John Wiley & Sons. New York, USA. 510 p.
- ZOBEL, B. 1993. Clonal forestry in Eucalypts. En: Ahuja & Libby (eds.) *Clonal Forestry II. Conservation and Application*. Springer-Verlag, Berlín, Alemania: 139-148.
- ZOBEL, B., VANWYK, G., STAHL, P. 1987. *Growing exotic forests*. John Wiley & Sons. New York, USA. 508 p.

CONTENIDO

UNIDAD 3

1.- INVERNADEROS Y PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE MINIESTACAS.....	71
2.- SUSTRATO PARA EL ENRAIZAMIENTO	73
3.- EL RIEGO EN EL INVERNADERO.....	75
4.- PREPARACIÓN DE LAS ESTAQUILLAS.....	77
5.- USO DEL ENRAIZADOR Y SIEMBRA DE LAS ESTAQUILLAS.....	79
6.- PROGRAMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN.....	80
7.-EFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO.....	81
8.- PREVENCIÓN FITOSANITARIA.....	82
9.-CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL A PLANTAR	83
10.- ÁREA DE ACLIMATACIÓN DEL MATERIAL A PLANTAR	84
11.- IMPORTANCIA DE LA VALIDACIÓN DE LOS CLONES.....	85
12.- ESPACIAMIENTO INICIAL DE LA PLANTACIÓN CLONAL.....	87
BIBLIOGRAFÍA.....	89

**VIVERIZACIÓN
DE PLANTAS
PARA ENSAYOS
DE EVALUACIÓN
GENÉTICA
DE ESPECIES
DENDROENERGÉTICAS**

**VIVERIZACIÓN DE PLANTAS PARA ENSAYOS DE EVALUACIÓN
GENÉTICA DE ESPECIES DENDROENERGÉTICAS**

AUTORES:

OLMAN MURILLO

M. ESPITIA

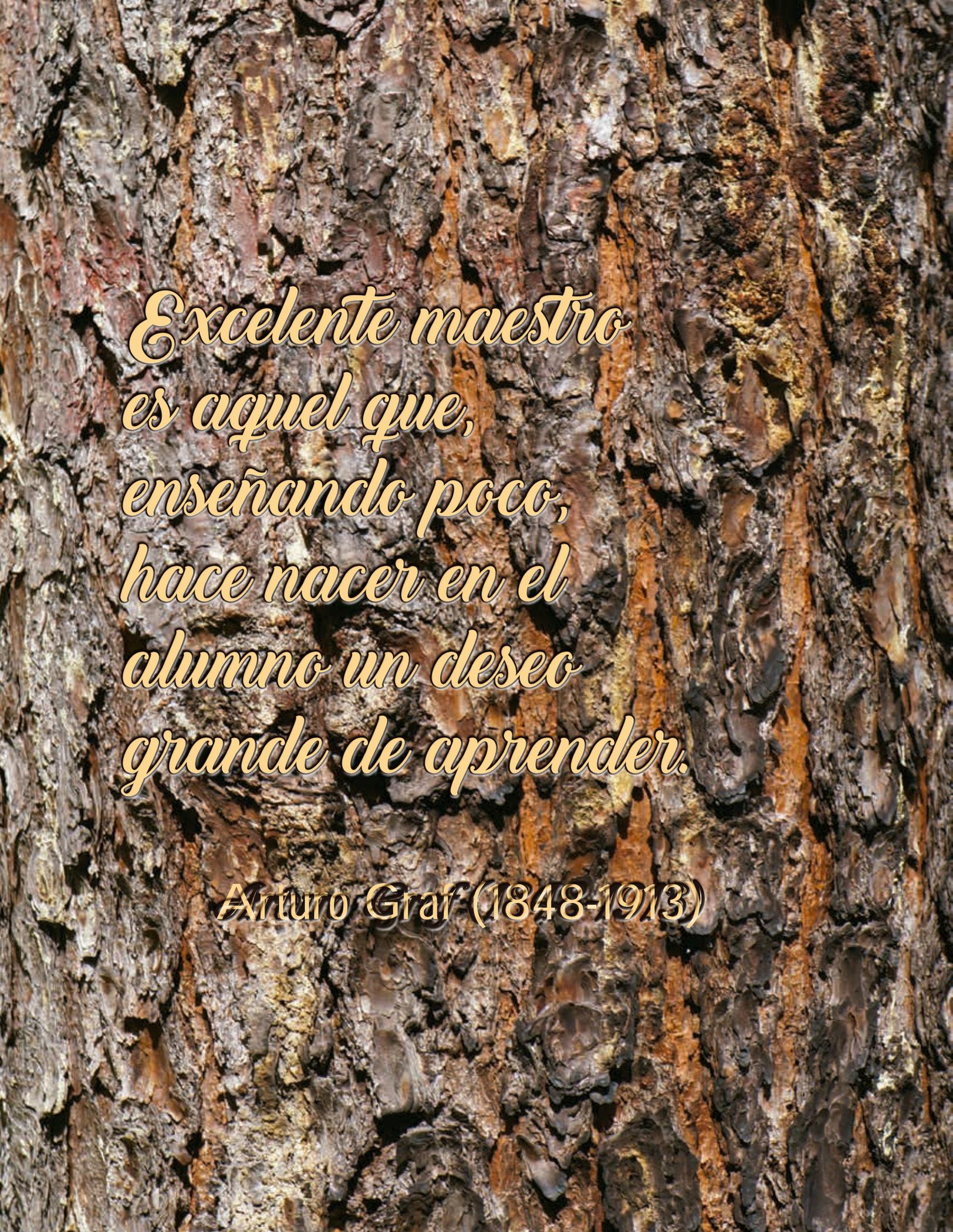
C. CASTILLO

DICIEMBRE 2017



*Lo más importante
que aprendí a
hacer después de los
cuarenta años fue a
decir no cuando es no.*

*Gabriel García Márquez
(1927-2014)*



*Excelente maestro
es aquel que,
enseñando poco,
hace nacer en el
alumno un deseo
grande de aprender.*

Arturo Graf (1848-1913)

1.- INVERNADEROS Y PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE MINIESTACAS

Como una actividad esencial en todo programa de mejoramiento genético está la evaluación de las colecciones de árboles superiores en campo. Los materiales deben ser evaluados en varios sitios representativos y replicados varias veces. Por tanto, es de suma importancia la reproducción del material a evaluar de manera eficiente y producir las plantas de la mejor calidad posible, para evitar incorporar algún tipo de error experimental. Como principio, debe garantizarse que cada árbol a ser evaluado, esté representado por plantas de excelente calidad.

Según varios autores (Gatti *et al.*, 2011; Ladrach, 2010; Cornelius y Ugarte-Guerra, 2010; Vallejos *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2009; Murillo, 2005; Chacón y Murillo, 2005; Murillo *et al.*, 2003; Murillo *et al.*, 2001a y 2001b; Mesén, 1998a y 1998b; Morales, 1999; Monteuis *et al.*, 1995; Zobel, 1993; Ahuja y Libby, 1993; Mascarenhas y Muralidharan, 1993), para lograr una adecuada propagación vegetativa de las colecciones genéticas es necesario establecer un invernadero con condiciones para lograr los tres factores principales requeridos:

- a) una reducción en la actividad fotosintética (sombra de sarán por lo general)
- b) una humedad relativa alta (>80-90%) que evite en todo momento el estrés hídrico
- c) una temperatura ambiente entre 30 y 35°C (con la instalación de un túnel de plástico transparente debajo del sarán)

La estructura del invernadero debe ser lo más simple y funcional posible. Para sostener un techo y paredes de sarán no es necesario utilizar una estructura costosa y de gran resistencia. Si se cuenta con suficientes recursos, esta estructura puede ser construida con tubo delgado (1 pulgada) acoplado o soldado en sus esquinas. Con el uso de pintura anticorrosiva, este tipo de estructura debe tener una vida útil no inferior a los 10 años. El uso de postes de una madera semidura como *Tectona grandis*, *Hieronyma alchorneoides* u otra especie disponible, debe ser inmunizada o preservada con alquitrán u otro producto disponible, de modo que sea un material viable durante al menos 3 años de producción. Los postes deben lograr darle una altura al techo de sarán de unos 3 o más metros. El techo y paredes deberán estar conformados por sarán y plástico, para lograr un mayor control de la luminosidad, evitar el efecto desecador

del viento y mantener una humedad relativa alta. Sin embargo, si el invernadero está totalmente cerrado, puede alcanzar temperaturas internas de hasta 50 °C al mediodía y provocar algún daño en las plantas cuando no se cuente con un sistema de riego óptimo. Por lo que se acostumbra dejar una ventana longitudinal, a todo lo largo de las paredes laterales, donde se deja el sarán pero se elimina el plástico, con lo que se garantiza un flujo de aire que disminuya los picos de temperatura internos.

Según varios autores (Gatti *et al.*, 2011; Ladrach, 2010; Cornelius y Ugarte-Guerra, 2010; Vallejos *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2009; Murillo *et al.*, 2003), dentro del invernadero deben establecerse líneas de producción o camas también de madera y poste rollizo a una altura de trabajo de 1 metro. Las camas también pueden ser construidas con tubo de $\frac{3}{4}$ de pulgada. Estas camas de producción, pueden ser construidas con tubo metálico soldado o acoplado, para aumentar su vida útil a unos 10 años. Estas camas no deben tener más de 1-1.2 m de ancho para que el sistema de riego logre mojar de manera uniforme todas las estacas de la cama. Sobre estas camas se coloca una malla o cedazo bien ajustado con madera (reglas de $\frac{1}{2} \times 3"$), como base donde se colocarán las bandejas de enraizamiento. Puede también establecerse un marco de madera alrededor de toda la cama de producción, (utilizando una regla de $\frac{1}{4} \times 3"$) sobre la cual se sostienen las bandejas de enraizamiento. Estas bandejas de enraizamiento pueden ser fabricadas con reglas de desecho o madera de bajo costo. En cada línea de producción deberá instalarse una línea de riego automático de aspersión nebulizada, con aspersores cada 1-1.5 m. Además deberá construirse un minitúnel con plástico transparente, procurando forrar todas paredes y piso de la cama. Este minitúnel deberá tener una altura no mayor a los 40 cm para lograr crear una cámara húmeda y alta temperatura en el ambiente de enraizamiento. Es importante que cada cama o línea de producción se divida en pequeños compartimentos con plástico, para lograr un mayor control de la producción y un mejor manejo preventivo de posibles problemas fitosanitarios (Figura 1).

Un invernadero de 7 m de ancho y 12 m de largo, con 4 líneas de producción, tiene una capacidad de albergar 18,400 miniestacas (con pellets de 42 mm de diámetro) en cada ciclo de producción (de 6-8 semanas). Si se utilizan las bandejas plásticas negras de horticultura con 200 unidades, la capacidad puede aumentar hasta aproximadamente 25,000 miniestacas (600 miniestacas/m² de área efectiva de minitúnel). Esta relación de producción asume un 50% del área de invernadero destinada a pasillos y accesos (Vallejos *et al.*, 2010; Murillo *et al.*, 2003).



FIGURA 1. MINITÚNELES EN UN INVERNADERO DE PROPAGACIÓN VEGETATIVA.

2.- SUSTRATO PARA EL ENRAIZAMIENTO

El enraizamiento de estacas requiere un sustrato especial para lograr este objetivo con calidad, de forma eficaz y eficiente, el cual dependerá principalmente de si se cuenta o no con un sistema de riego, y de si se desea que en el mismo medio de enraizamiento sea luego transferida la nueva planta al sitio de plantación. Si se tiene un sistema de riego automático nebulizado, el mejor sustrato es la arena pura y desinfectada. En los últimos años se desarrolló la técnica de aeroponía o enraizamiento al aire, donde no hay sustrato. Pero para lograr utilizar esta técnica de enraizamiento es imprescindible contar con un excelente sistema de riego.

Cuando no se cuenta con un buen sistema de riego entonces deberá utilizarse un sustrato capaz de retener la humedad, entre otros, tierra con arena (50:50), tierra pura o con un 10% de granza o cascarilla de arroz, carbón o arena con carbón (Gatti *et al.*, 2011; Xavier *et al.*, 2009; Chacón y Murillo, 2005), o también los pellets o pastillas silvícolas. Las bandejas plásticas de 120 a 200 unidades funcionan bien con el sustrato arena, pero aproximadamente a las 3 semanas deben ser trasplantadas las estaquillas sobrevivientes, ya que el sistema radical puede empezar a sufrir daños. Esto implica que la estaquilla enraizada no podrá llevarse al campo en la bandeja, sino en algún tipo de pote como la bolsa plástica, el pellet u otra opción deseada (tubetes). Con la *Gmelina arborea* ha dado excelentes resultados el enraizamiento de las estaquillas en bandejas de 120 unidades y utilizando el aserrín fino fresco de la misma especie como sustrato. Este sustrato forma una especie de adobe que permite al final del período (28 a 35 días aproximadamente), que la nueva planta pueda ser retirada fácilmente de la bandeja y sin daño a sus raíces, para que pueda ser plantada inmediatamente. Otros sustratos que se han utilizado con éxito en sistemas de producción de plantas en bandeja, están basados en la relación: de 20-30% de materia orgánica, 10-15% de granza de arroz y un 60-70% de tierra. Este tipo de sustrato permite al final del proceso de enraizamiento, que la planta salga fácilmente de la bandeja junto con un pequeño adobe (Figura 2). La incorporación de carbón vegetal en el sustrato se ha probado con éxito, sin embargo su utilización es preferible en mezcla con arena o tierra, para garantizar la formación de un adobe (Murillo *et al.*, 2003).



FIGURA 2. PLANTAS DE ACACIA (ACACIA MANGIUM) ENRAIZADA EN BANDEJA, CON UN ADOBE SUFICIENTE PARA SER LLEVADA A CAMPO.

El pellet ha dado buenos resultados en el enraizamiento directo de estaquillas de *Tectona grandis*, *Hieronyma alchorneoides* y *Vochysia guatemalensis*. El objetivo es el de poder eliminar el trasplante (estrés y costos) que se requiere cuando se pone a enraizar las estaquillas en las bandejas plásticas. Sin embargo, la opción del pellet debe todavía refinarse para las demás especies, ya que una baja tasa de enraizamiento (<70%) sería antieconómico en este sistema (la unidad de 50 mm de diámetro cuesta alrededor de US\$ 0.1, mientras que el pellet de 36 mm tiene un costo de US\$ 0.05). En aquellos casos donde se obtenga una tasa de enraizamiento inferior al 70%, deberá entonces promoverse el enraizamiento inicial de las estaquillas en bandejas plásticas (de 120 a 200 unidades), durante unas 2 a 3 semanas como máximo (Murillo *et al.*, 2003). Para luego trasplantar al pellet, únicamente aquellas estaquillas que han logrado iniciar con la aparición de sus primeras raíces (Figura 3).



FIGURA 3. PLANTAS DE MELINA (GMELINA ARBOREA) ENRAIZADAS, TRASPLANTADAS EN PELLETS DE 50 MM DE DIÁMETRO.

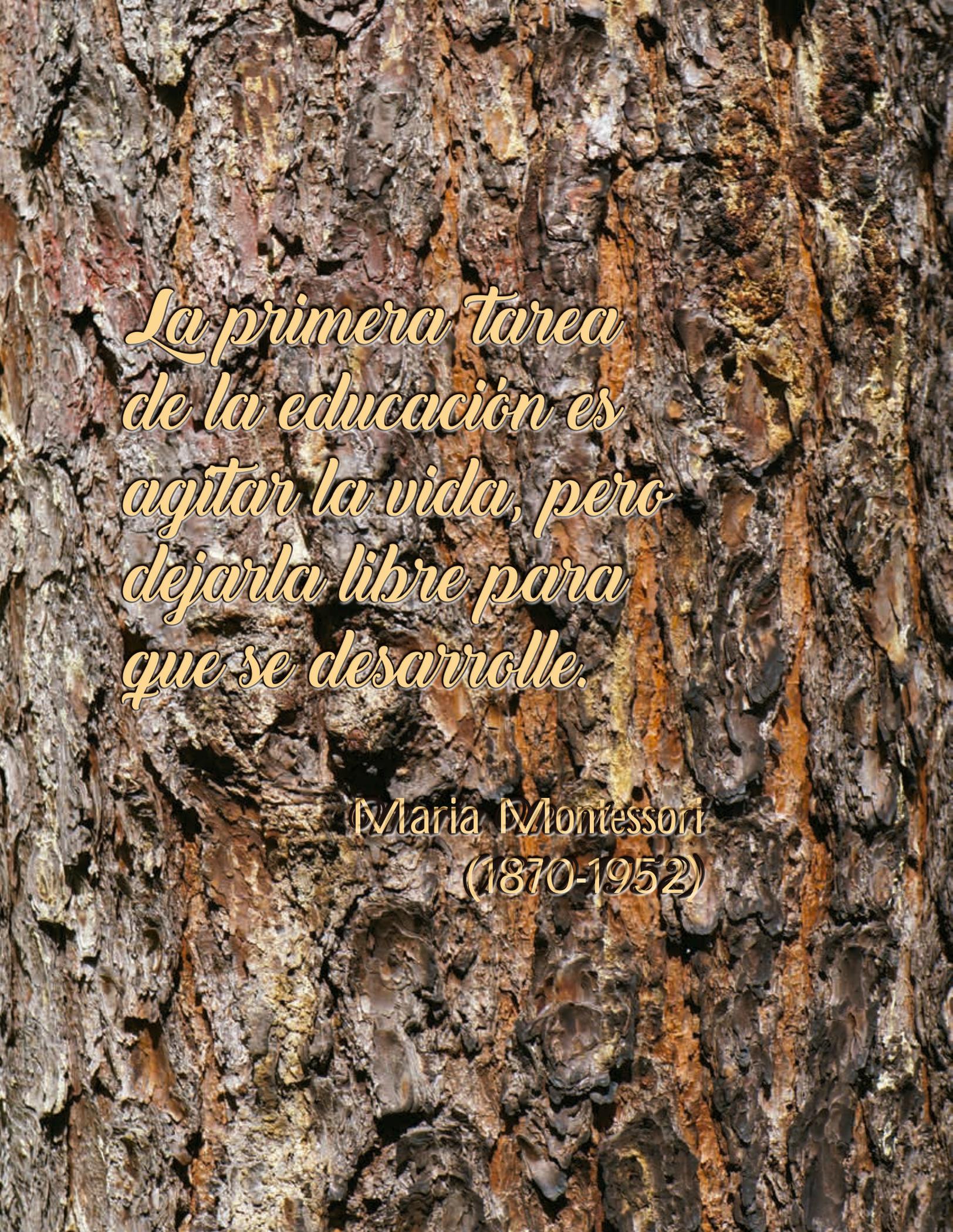
Los pellets pueden también ser preparados el día anterior a la siembra, con el fin de lograr una mejor consistencia y tamaño. La ahoyada en el pellet sí debe ser realizada pocos minutos previos a la siembra de las estaquillas.

En el mercado es posible conseguir una serie de productos orgánicos que pueden ser utilizados en la desinfección del sustrato y las estaquillas. Uno de los más conocidos es el Kilol (5 cc/l) o el Biocto (3 cc/l), que pueden diluirse y aplicarse con bomba de espalda, procurando mojar generosamente los pellets previo a la siembra de la estaquilla. Este producto debe aplicarse de manera preventiva al menos 1 vez al inicio de cada semana (Murillo *et al.*, 2003; Badilla *et al.*, 2000).

3.- EL RIEGO EN EL INVERNADERO

El riego en el invernadero debe ser preferiblemente nebulizado y automático. Si se trabaja con bandejas plásticas y un sustrato de tierra:arena (1:1), un programa de riego adecuado debe mojar desde las 7 u 8 am, durante un minuto cada hora hasta las 3 ó 4 pm. En días muy soleados, calurosos o ventosos, el riego deberá aumentar su frecuencia a aproximadamente cada 30 minutos.

En los días lluviosos y con una alta humedad relativa, el riego debe disminuir su frecuencia a una vez al día o quizá cada dos días. Con esto se busca eliminar un exceso de humedad en el medio de enraizamiento. En caso de no contar con un sistema de riego, se aplica en forma manual con ayuda de una bomba de espalda. Esto implica una importante dedicación de jornales en los días calurosos. Si se realiza el enraizamiento en pellets, entonces el riego debe disminuir considerablemente, hasta 1 mojada/día con una duración de 30 segundos a 1 minuto. Se ha observado en la Zona Norte de Costa Rica, que durante períodos de mal tiempo con alta pluviosidad y humedad relativa, los pellets pueden inclusive mojarse cada 2-3 días. Mientras que en días muy soleados y calurosos deben mojarse hasta 3 veces/día. En caso de tener fallas con el sistema de riego automático, una posibilidad es la de utilizar una bomba de espalda mojando generosamente por unos 10-20 segundos cada bandeja (Vallejos *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2009; Murillo, 2005; Chacón y Murillo, 2005; Murillo *et al.*, 2003).



*La primera tarea
de la educación es
agitar la vida, pero
dejarla libre para
que se desarrolle.*

*Maria Montessori
(1870-1952)*

4.- PREPARACIÓN DE LAS ESTAQUILLAS

La identificación de todas las estaquillas de un mismo árbol o clon debe mantenerse con sumo cuidado. Este es uno de los aspectos más importantes de todo el proceso, ya que no debe nunca mezclarse material procedente de diferentes clones. Por lo tanto, es recomendable establecer una organización del personal y del equipo (baldes, pellets, bandejas, libretas de apuntes, marcadores, paletas de identificación, etc), de modo que se garantice que el material de cada árbol o clon se procesará de manera independiente y debidamente identificado durante todo su procesamiento.

Las estaquillas que vienen del tocón tienen un largo aproximado de 20 cm para evitar que sufra un estrés hídrico severo o se marchiten. En el invernadero, las estaquillas se cortan hasta dejarlas de un tamaño de unos 5-8 cm, procurando que incluyan preferiblemente un solo nudo (Mesén, 1998). Debe procurarse no eliminar el ápice o yema terminal, ya que se estimula a la planta a seguir produciendo brotes. Lo cual puede repercutir posteriormente en la obtención de plantas en campo que requieren de podas tempranas de formación o de eliminación de ramas bajas. Se ha encontrado en la mayoría de las especies una tasa mayor de enraizamiento con la segunda estaquilla dentro del brote (Badilla *et al.*, 2000). Pero si se espera hasta que el brote alcance las dos estaquillas, puede significar un atraso en la velocidad de propagación y una lignificación mayor en la segunda estaquilla potencial. Por lo general no se recomienda propagar las estaquillas muy lignificadas o cercanas a la base del brote, ya que presentan mayor dificultad para enraizar. En *Gmelina arborea* puede observarse la aparición de un pequeño “duramen” en la estaquilla como indicador del proceso de iniciación del proceso de lignificación (Chacón y Murillo, 2005; Murillo *et al.*, 2003).

Las hojas deben ser eliminadas completamente, excepto las últimas dos, que se recortan hasta dejarlas aproximadamente a 1/3 de su lámina foliar. Sin embargo, si en el área de enraizamiento se observa la aparición de musgo en la superficie, es necesario permitir que aumente la entrada de luz mediante una reducción aún mayor de la lámina foliar. Esta técnica ha dado buenos resultados en enraizamiento de estaquillas de *Gmelina arborea*.

La preparación de las estaquillas debe realizarse siempre a la sombra y las estaquillas deben permanecer húmedas el mayor tiempo posible. La preparación de las estaquillas puede realizarse fuera del invernadero, bajo un cobertizo cómodo y bien ventilado. Por lo general, el ambiente dentro de los invernaderos es sumamente caluroso y húmedo, lo que limita al personal en esta importante labor, Toda la labor de preparación de las estaquillas, su desinfección, inmersión en el enraizador y siembra en la bandeja o pellet puede ser realizado fuera del invernadero.

En *Tectona grandis* se ha obtenido mejores tasas de enraizamiento, al utilizar el primer brote o cogollo que se produce de estaquillas recién enraizadas dentro del invernadero (a las 4 semanas). Este primer brote es mucho más delgado que el brote proveniente del jardín clonal y se adapta mejor a los pellets pequeños de 30 y 36 mm. Este material es mucho más delgado, sano y succulento, lo cual lo hace ideal para su propagación vegetativa, además de que acelera la tasa de propagación del programa. Cuando se aplica esta técnica, las estaquillas a las que se les podó su primer brote deberán permanecer al menos 1 semana más dentro del invernadero. En Córdoba (Colombia) se han aplicado y corroborado estas técnicas en la clonación de árboles adultos y la multiplicación de plántulas en *T. grandis* y *G. arborea* con resultados exitosos en cantidad y calidad (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Espitia, 2010) (Figura 4).

Mientras se están cortando las estaquillas, éstas deben permanecer en una solución con Kilol (5 cc/litro) con el fin de iniciar su desinfección. Las estaquillas pueden permanecer desde 2 hasta 30 minutos en esta solución. También pueden sumergirse en una solución basada en ajo (10 cc/l) durante unos 5 segundos.

Las estaquillas de especies que liberan gran cantidad de sustancias oxidantes, como las del género *Vochysia spp*, deben permanecer en agua corriendo por al menos 1 hora. Una vez transcurrido este tiempo, se les debe cortar de nuevo un segmento en la base, ya que pueden haber sufrido ya una oxidación o cicatrización (Murillo *et al.*, 2003).



FIGURA 4: MINIESTAQUILLA Y PLANTA DE ALTA CALIDAD PRODUCIDAS VEGETATIVAMENTE EN INVERNADERO PARA EL ESTABLECIMIENTO DE PLANTACIONES COMERCIALES.

5.- USO DEL ENRAIZADOR Y SIEMBRA DE LAS ESTAQUILLAS

Las estaquillas se extraen de la solución de desinfección y se dejan escurrir para eliminar el exceso de agua. Se prepara entonces un recipiente con el enraizador que puede ser del producto comercial AGRIRROOT, Magic Root, Rootone, etc (para *Tectona grandis*, *Hieronyma alchorneoides*, *Ulmus mexicana* y *Vochysia spp*), que viene preparado en forma comercial en una dosis de un 1% ó 10.000 ppm de AIB (ácido indol-butírico). La mayoría de las especies no toleran una dosis tan alta y requieren no más de 0.2% ó 2,000 ppm (*Eucalyptus Spp*, *Cupressus lusitanica*, *Alnus acuminata*, *Tectona grandis*, *Gmelina arborea*, entre otras). En estos casos deberá buscarse un producto comercial que indique una dosis baja o conseguirse AIB puro y prepararse en estas dosis (diluido en alcohol). En el pellet o la bandeja se procede a hacer un hoyo donde se sembrará la estaquilla. Se introduce entonces la base de la estaquilla en el enraizador hasta lograr que el polvo blanco se adhiera. La estaquilla se sacude ligeramente para eliminar el exceso de enraizador y se siembra directamente en el hoyo hecho en el pellet o la bandeja. Una vez sembradas todas las estaquillas se deben mojar ligeramente con el sistema de riego que se esté utilizando (Figura 5) (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Murillo *et al.*, 2003). Se puede conseguir también en el mercado un estimulante para el enraizamiento que viene en una presentación líquida (combina el AIB con el ácido naftalenoacético o ANA) y se puede aplicar el producto directamente a los pellets previo a la siembra, incluso el agua con la que se mojan y hacen crecer los pellets.



FIGURA 5. ESTAQUILLAS EN PROCESO DE ENRAIZAMIENTO

6.- PROGRAMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN

El sistema de enraizamiento requiere de aproximadamente 2-3 semanas dentro del minitúnel y de 2 a 4 semanas en la zona de desarrollo final y aclimatación (*Tectona grandis*, *Hieronyma alchorneoides*, *Ulmus mexicana* y *Vochysia spp*). Con algunas especies como *Hieronyma alchorneoides* y *Tectona grandis* es preferible realizar la propagación en dos fases: 3 semanas en bandeja plástica con sustrajo arena (fase de enraizamiento), se transplanta al pellet y se mantiene dentro del minitúnel por una semana adicional, para finalmente pasar a la zona de desarrollo y aclimatación (2 a 4 semanas). En *Cupressus lusitanica* y otras coníferas puede tardar hasta 8 semanas el enraizamiento. Todo el proceso se prolonga entonces por 5 semanas (*Ulmus mexicana* y *Gmelina arborea*), 6-8 semanas (*Tectona grandis* y *Acacia mangium*), 8-12 semanas (*Vochysia guatemalensis*, *Terminalia amazonia*, *Hieronyma alchorneoides*, *Ulmus mexicana* y *Cupressus lusitánica*). En pruebas recientes, se ha aumentado la sobrevivencia y enraizamiento al aplicar un estimulante vía foliar (enraizador) a los 8 y 15 días de sembrada la estaquilla en la bandeja (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Murillo *et al.*, 2003; Murillo *et al.*, 2001a; Sánchez y Murillo, 2000; Mesén *et al.*, 1996).

Por lo general aparece primero la brotadura en la estaquilla (2-3 semanas en casi todas las especies, 5 semanas en *Cupressus lusitanica*) y luego continúa con la aparición de la raíz. En algunos casos, la aparición de la raíz ocurre hasta varias semanas después retrasando el proceso. El uso de un fertilizante foliar alto en fósforo (FONUTREN u otro) puede ser empleado dentro del invernadero, una vez que se detecte la aparición del brote, para tratar de acelerar la conformación final de la estaquilla. Los productos AGRI-GRO y CARBO-VIT (1 litro/estañón = 55 gal), así como CROP+ y NPK o CITOZYME (1/2 litro/estañón) se pueden conseguir en el mercado. Sobre el uso de estos productos y la frecuencia de aplicación, se requiere aún de mayor validación, ajuste y experimentación (Murillo *et al.*, 2003).

7.- EFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO

De acuerdo con Murillo *et al.* (2003), cuando se trabaja con los jardines clonales a plena exposición al ambiente, se ha observado que por lo general durante la época seca el jardín clonal no logra alcanzar una tasa de producción de brotes satisfactoria. Este fenómeno es especialmente marcado en especies caducifolias, que entran en un período de latencia natural donde disminuye de manera importante todo su metabolismo. Sin embargo, no se han desarrollado experiencias suficientes con la posible aplicación de programas de riego en el jardín clonal, con el fin de contrarrestar este efecto. En estos casos, es preferible permitirle a las plantas un período de descanso y reposición durante la parte del año en que no estarán sometidas a una intensa producción vegetativa.

Sin embargo, hoy día las tecnologías de producción y manejo de minijardines clonales en ambiente protegido, han permitido superar notablemente estas dificultades en la mayoría de las especies forestales.

8.- PREVENCIÓN FITOSANITARIA

Cada vez que se obtiene una nueva cosecha de estaquillas enraizadas del minitúnel, toda el área debe limpiarse minuciosamente con agua y jabón. Después debe limpiarse con alcohol todas las paredes internas con el fin de eliminar posibles patógenos. Debe recordarse que este es un medio ideal para la proliferación de hongos y otros patógenos, por lo que deben seguirse todas las medidas posibles de desinfección y prevención. Si se han utilizado bandejas plásticas, entonces deberán lavarse cuidadosamente con agua y jabón después de trasplantado el material. Las bandejas deberán también ser desinfectadas con alcohol antes de ser utilizadas nuevamente. Con especies muy sensibles a los patógenos como la melina, se debe realizar cada semana una aplicación de un fungicida/bactericida dentro del invernadero con fines de prevención de problemas fitosanitarios (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Espitia, 2010; Murillo *et al.*, 2003). Se debe procurar alternar diferentes productos con el fin de lograr un mayor espectro de cobertura. En caso de no poderse utilizar productos sintéticos, es posible conseguir hoy día en el mercado algunos productos de origen orgánico a base de ajo y otros a partir de extractos de semilla de cítricos (Kilol y el Biocto). El uso experimental de *Trichoderma utile* (2 kg/estañón= 55 gal) ha permitido una limpieza de musgos y algas en los sustratos de los minijardines clonales, en los pasillos, y en toda el área de invernadero en general. Su utilización preliminar ha permitido inclusive reducir los efectos del complejo del mal de talluelo (*damping off*) en muchos invernaderos. Se estima que el perfeccionamiento en el uso de este tipo de biocontroladores, permitirá avanzar en la prevención y manejo de problemas fitosanitarios en los sistemas de producción clonal forestal. De particular importancia en el manejo de minijardines clonales de melina, una de las especies más sensibles a los patógenos.

En minijardines de teca aparece con frecuencia ataques del ácaro conocido como la arañita roja (*Tetranychus urticae*), que se ubican en el envés de las hojas. La utilización a escala experimental de la bacteria *Bauveria spp* ha resultado ser muy exitosa en su control.

9.- CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL A PLANTAR

En la fase de vivero es donde se deben aplicar los criterios más estrictos de control de calidad. Las pérdidas en campo por haber plantado material de baja calidad, serán mucho mayores que las que puedan ocurrir en la fase de invernadero. Por tanto, es vital que el material que se envíe a plantar esté en condiciones óptimas de sobrevivir y desarrollarse bien en campo. Las técnicas de propagación vegetativa permiten acelerar la producción masiva de plantas, pero desarrollan material de menor tamaño y en estado juvenil. Esto implica la necesidad de incluir un programa y acciones de control de calidad en dos fases:

- a) Al finalizar el enraizamiento, en el momento del transplante al Jiffy o pote
- b) Al finalizar la fase de aclimatación, previo al despacho final a campo.

En la primera fase deben eliminarse todo tipo de plantas con defectos visibles como torceduras de tallo o raíz, débil brotación, presencia de hongos o alguna quema leve en el tallo, folias amorfas o dispares en tamaño en teca y melina, tamaño muy pequeño, principalmente. Una vez transplantadas continúan con su fase de desarrollo y aclimatación. En esta segunda fase, las plantas deben presentar al menos de dos a tres pares de hojas verdaderas, buen estado fitosanitario, una altura de 8 a 10 cm, vigorosas, una masa radical visible y saludable, folias completas y en parejas del mismo tamaño (teca y melina), sin deficiencias nutricionales visibles, sin pérdida del meristemo y sin evidencia de problemas fitosanitarios. El proceso de control de calidad debe ser por tanto estricto en la fase de producción en invernadero y eliminar todas aquellas plantas que no reúnan estas condiciones. Las primeras experiencias en Costa Rica y Colombia registran una eliminación de hasta un 10-15% en la primera fase (transplante a Jiffy o tubete) y otro 10% del material que ya ha superado la fase de transplante y se localizan en la fase de desarrollo y aclimatación (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Murillo *et al.*, 2003).

10.-ÁREA DE ACLIMATACIÓN DEL MATERIAL A PLANTAR

Muchos autores (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Vallejos *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2009; Murillo, 2005; Chacón y Murillo, 2005; Murillo *et al.*, 2003; Murillo *et al.*, 2001a y 2001b; Mesén, 1998; Zobel, 1993), coinciden en señalar que como fase final del proceso de propagación y preparación del material para ser llevado a plantación, se deben aclimatar las plantas (excelentemente identificadas) en un espacio fresco y amplio, que les permita endurecerse y desarrollarse para mejorar su establecimiento definitivo en el campo. Este espacio debe evitar el paso de animales, controlar el efecto de vientos y lluvias fuertes y permitir el paso parcial de la luz, que en forma gradual se les irá eliminando en un periodo de unas 2 a 4 semanas, dependiendo de tasa de desarrollo de la especie. Por lo general se construyen instalaciones simples con postes de madera, sábanas u hojas de palma en el techo y plástico o cedazo en la parte de las paredes. Una a dos semanas previas al despacho final, se acostumbra dejar las plantas a plena exposición de la luz solar, con el fin de garantizar un endurecimiento y lignificación suficiente para sobrevivir en su establecimiento inicial en campo. En Costa Rica y Colombia (Gatti *et al.*, 2011; Suárez y Gatti, 2011; Espitia, 2010; Murillo, 2005; Chacón y Murillo, 2005; Murillo *et al.*, 2003) se ha venido practicando en especies como teca, melina y acacia la reducción con tijera de la mitad del área foliar en las plantas en esta fase final de aclimatación. Con esta técnica se logra prevenir una deshidratación severa inicial, se aumenta la lignificación y se ha disminuido considerablemente la mortalidad en los primeros 30 días.

11.- IMPORTANCIA DE LA VALIDACIÓN DE LOS CLONES

Los clones seleccionados fenotípicamente deben ser evaluados en campo para verificar su superioridad genética en distintos ambientes. Debe tenerse presente que la selección inicial no garantiza su buen desempeño en todas las condiciones de sitio. Esta evaluación es vital para poder elegir los mejores 20 clones comerciales, con base en su calidad de fuste y rendimiento. Estos ensayos clonales se deberán establecer, en la medida de lo posible, en al menos 3 sitios representativos de las áreas a reforestar por la organización o empresa. Los ensayos clonales se establecen en un diseño experimental de Bloques Completos al azar, donde cada clon estará representado por seis plantas (rametos) dentro de cada bloque. Por lo general, estos diseños se establecen con seis bloques, por tanto, cada clon tendrá 6 bloques x 6 plantas/bloque = 36 plantas/clon. Para mejorar la eficiencia en la evaluación de los clones, se acostumbra a distribuir aleatoriamente dentro del bloque las seis plantas de cada clon en tres parejas. Se recomienda que el tamaño de cada bloque no supere los 2500 m², con el fin de garantizar condiciones ambientales homogéneas para todos los clones a evaluar. Esto significa que no es recomendable evaluar más de 35 a 40 clones simultáneamente. En caso de contar con una colección genética mayor, se acostumbra dividir la colección en subgrupos de 35 clones y se mantiene un grupo de 5 clones comunes a todos los subgrupos, junto con al menos dos materiales testigo o semilla comercial de comparación. En la (Tabla 1), se relacionan las características más importantes a evaluar en los ensayos clonales durante los siete primeros años (Murillo *et al.*, 2003).

TABLA 1. CARACTERES A EVALUAR EN LOS ENSAYOS CLONALES.

Edad (años)	Caracteres a evaluar
1	Altura total (m) y cantidad de ramas en el primer metro o primera troza
2	Altura total, DAP, características cualitativas
3 ó 4	Altura total, DAP, características cualitativas y propiedades de la madera
5	Altura total, DAP, características cualitativas
7	Altura total, DAP, características cualitativas y propiedades de la madera.



*Me lo contaron y
lo olvidé; lo vi y lo
entendí; lo hice y lo
aprendí.*

Confucio (551 A.C. - 478 A.C.)

12.-ESPACIAMIENTO INICIAL DE LA PLANTACIÓN CLONAL

La tecnología de reforestación clonal impone una serie de ventajas que propician la modificación de las técnicas de establecimiento y manejo de las plantaciones. Una de las más importantes es que al ser todos los individuos de muy alta calidad y casi idénticos, los raleos pasan a ser necesarios únicamente desde el punto de vista del manejo de la densidad. Esto es particularmente válido cuando los objetivos sean la producción de madera sólida, lo que implica que los raleos podrán ejecutarse de forma sistemática, facilitando enormemente esta labor. Al garantizarse que la mayoría de los árboles tengan ahora buenas características para su uso industrial, los silvicultores buscan reducir el número de árboles a plantar/ha para disminuir los costos de plantación y mantenimiento. Esto ha motivado la revisión del espaciamiento inicial, pero también el esfuerzo de fomentar un crecimiento más rápido del diámetro, con el fin de lograr que alcance dimensiones comerciales al momento del primer raleo (Espitia *et al.*, 2011; Espitia *et al.*, 2010b; Murillo *et al.*, 2003).

Con base en la experiencia en Costa Rica y en conversaciones con silvicultores experimentados, se sugieren los siguientes 5 espaciamientos para ser evaluados:

- 3m x 4m (833 árboles/ha)
- 4m x 4m (625 árboles/ha)
- 4m x 2.5m (1,000 árboles/ha)
- 3m x 5m (667 árboles/ha)
- 4m x (2.5m x 2.5m) (1,230 árboles/ha): método de la doble hilera, donde se plantan en sistema de pata de gallo o tresbolillo dos hileras juntas a 2.5m separadas por un callejón de 4m.

Este ensayo está diseñado para utilizar 4 clones, donde cada clon será considerado como un bloque. Cada espaciamiento es evaluado por medio de una parcela o unidad experimental de 81 árboles (9 x 9), cuya parcela útil interna tendrá 25 árboles (5 x 5) y 2 hileras de borde, con el fin de garantizar que la parcela útil exprese el efecto del espaciamiento en el crecimiento de los árboles.

En este ensayo se evalúa:

- Costo del establecimiento.
- Frecuencia y costo de control de malezas.
- Frecuencia y costo de podas y deshijas.
- Crecimiento anual en DAP, altura total, diámetro de copas (en dos direcciones)
- Calidad del fuste y en especial, número de ramas a los 2.5 y 5 m.

El objetivo es poder encontrar el espaciamiento que optimice costos, crecimiento, calidad del fuste, volumen/ha y DAP al momento del primer raleo. Con este número de árboles/espaciamiento se tendría entonces una superficie por clon o bloque de 4,951,1 m², para un área total de 19,804 m², como se muestra en la en la Tabla 2.

TABLA 2. DISEÑO EXPERIMENTAL DEL ENSAYO DE ESPACIAMIENTOS DE CLONES (MURILLO, 2001).

Espaciamiento	3mx4m	4mx4m	3mx5m	2.5mx4m	4m(2.5mx2,5m)
Tamaño y área de parcela (9x9 árboles)	27mx36m 972m ²	36mx36m 1,296 m ²	27mx45m 1,215 m ²	22.5m x36m 810 m ²	29.25mx22.5m 658,125 m ²
Número de árboles/ha	833	625	667	1,000	1,230

BIBLIOGRAFÍA

- AHUJA, M.R. & LIBBY, W.J. 1993. Clonal Forestry II, Conservation and Application. Springer-Verlag, Berlín. 240 pp.
- BADILLA, Y., RODRÍGUEZ, L., MURILLO, O. Y OBANDO, G. 2000. Avances en la clonación de cebo, botarrama, pilón y almendro. Programa de mejoramiento y conservación genética de especies forestales. Reporte de Investigación No. 1. 11 p.
- CHACÓN, P; MURILLO, O. 2005. Análisis comparativo de la producción de minijardines clonales hidropónicos y jardines clonales en tierra de melina (*Gmelina arborea* Roxb.). Kurú: Revista Forestal 2(6):7 p.
- CORNELIUS, J.; UGARTE-GUERRA, L. 2010. Introducción a la Genética y domesticación forestal para la Agroforestería y Silvicultura. *Notas de clase*. Lima, Perú. Centro mundial para la agroforestería (ICRAF). 124 p.
- ESPITIA, M. 2010a. Selección de arboles plus y creación de fuentes semilleras de teca (*Tectona grandis*), melina (*Gmelina arborea roxb*) y acacia (*Acacia mangium willd*) en el departamento de Córdoba - Sexto Informe de Avance. Documento impreso. Montería, dic/15/2010. 116p.
- ESPITIA, M., MURILLO, O., CASTILLO, C. 2011. Progreso esperado en la selección de melina (*Gmelina arborea* Roxb.) en Córdoba (Colombia). En memorias impresas. ISSN 2248-6674. XLI Congreso Anual de COMALFI (Sociedad Colombiana de Control de Malezas y Fisiología Vegetal). Universidad del Tolima - Ibagué (Tolima) 21, 22 y 23 de septiembre/2011. 136p.
- ESPITIA, M.; MURILLO, O.; CASTILLO, C. 2010b. Ganancia genética esperada en la selección de teca (*Tectona grandis* L.) en Córdoba (Colombia). Revista Colombia Forestal. Vol.13, Número 2: En impresión.
- GATTI, K.C., SUAREZ, I., ESPITIA, M., TOBAR, D. 2011. Producción de plántulas por miniestacas de *Tectona grandis* Linn F., *Acacia mangium* Wild y *Gmelina arborea* Roxb. 50p. En Impresión.
- LADRACH, W. 2010. Manejo Práctico de Plantaciones Forestales en el Trópico y Subtrópico. Editorial Tecnológica. (en prensa). Cartago, Costa Rica. 67p.
- MASCARENHAS, A.F; MURALIDHARAN, E.M. 1993. Clonal forestry with tropical hardwoods. Capítulo 10. En: Ahuja & Libby (eds.) Clonal Forestry II. Conservation and Application. Springer-Verlag, Berlín, Alemania: 169-176.
- MESÉN, F. 1998a. Enraizamiento de estaquillas juveniles de especies forestales: uso de propagadores de sub-irrigación. CATIE. PROSEFOR. Serie Técnica. Manual Técnico No. 30. Turrialba, Costa Rica. 36 p.

- MESÉN, F. Y TREJOS, E. 1998b. Propagación vegetativa del San Juan (*Vochysia guatemalensis* Donn. Smith) mediante enraizamiento de estaquillas juveniles. Revista Forestal Centroamericana 21: 19-24.
- MESÉN, F., LEAKEY, R.R.B. Y NEWTON, A.C. 1996. Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruiz&Pavon) Oken: the effects of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. Forest Ecology and Management 92: 45-54.
- MONTEUUIS, O; VALLAURI, D; POUPARD, C; HAZARD, L; YUSOF, Y; LATIP., A.W; GARCÍA, C; CHAUVIÈRE, M. 1995. Propagation clonale de teck matures par bouturage horticole. Bois et Foret des Tropiques 243: 25-39
- MORALES, W. 1999. Evaluación del potencial de enraizamiento de material juvenil de *Terminalia amazonia*. Tecnología en Marcha Vol 13: 175-179.
- MURILLO, O, OBANDO, G, BADILLA, Y. Y ARAYA, E. 2001a. Estrategia de mejoramiento genético para el Programa de Conservación y Mejoramiento Genético de especies forestales del ITCR/FUNDECOR, Costa Rica. Revista Forestal Latinoamericana 16 (30): 273-285.
- MURILLO, O. 2001. Oferta para el desarrollo de un programa para FUNDECOR, de reforestación clonal en las zonas altas y bajas del Área de Conservación de la Cordillera Volcánica Central (ACCVC) de Costa Rica. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Ingeniería Forestal. Centro de Investigaciones en Integración Bosque Industria (CIIBI). Cartago, Costa Rica. 29p.
- MURILLO, O. 2005. Hacia el cultivo de madera en Costa Rica. *El Tatascán* (Honduras) Vol 17.
- MURILLO, O., BADILLA, Y., Y OBANDO, G. 2001b. ¿Semillas versus propagación vegetativa: hacia dónde vamos?. Revista Forestal Latinoamericana 16 (30): 67-77.
- MURILLO, O.; ROJAS, J. L. Y BADILLA, Y. 2003. Reforestación Clonal. 2da edición. Taller de Publicaciones. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 36 p.
- SÁNCHEZ, S. MURILLO, O. 2000. Potencial de reforestación clonal con ciprés (*Cupressus lusitanica*). Revista Forestal Centroamericana 32: 30-33.
- SUÁREZ, I., GATTI, K. 2011. Informe final del proyecto de investigación Paquete tecnológico para la producción de material de siembra de teca (*Tectona grandis* Linn. F.), melina (*Gmelina arborea* Roxb) y acacia (*Acacia mangium* Wild) para la Cadena Forestal de Córdoba. Documento impreso. 150p.
- VALLEJOS, J.; BADILLA, Y.; PICADO, F. Y MURILLO, O. 2010. Metodología para la selección e incorporación de árboles plus en programas de mejoramiento genético forestal. Agronomía Costarricense. Vol.33, Número 1: 105-119.
- XAVIER, ALOISIO; WENDLING, IVAR; DA SILVA, ROGÉRIO. 2009. Silvicultura Clonal. Principios e Técnicas. Editorial Universidad Federal de Vicosa. Vicosa, Minas Gerais, Brasil. 272 p.
- ZOBEL, B. 1993. Clonal forestry in Eucalypts. En: Ahuja & Libby (eds.) Clonal Forestry II. Conservation and Application. Springer-Verlag, Berlín, Alemania: 139-148.

